



**ENKAPSULASI KOMBINASI PREBIOTIK  
XILOOLIGOSAKARIDA DAN PROBIOTIK *LACTOBACILLUS*  
*ACIDOPHILUS* DENGAN ALGINAT-PEKTIN-BORAKS  
SEBAGAI ENKAPSULAN TARGET KOLON**

**SKRIPSI**

Oleh

**Ayu Prastiyani  
151810301003**

**JURUSAN KIMIA  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS JEMBER  
2020**



**ENKAPSULASI KOMBINASI PREBIOTIK  
XILOOLIGOSAKARIDA DAN PROBIOTIK *LACTOBACILLUS  
ACIDOPHILUS* DENGAN ALGINAT-PEKTIN-BORAKS  
SEBAGAI ENKAPSULAN TARGET KOLON**

**SKRIPSI**

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu  
syarat untuk menyelesaikan Program Studi Kimia (S1) dan  
mencapai gelar Sarjana Sains

Oleh

**Ayu Prastiyani  
151810301003**

**JURUSAN KIMIA  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS JEMBER  
2020**

## PERSEMBAHAN

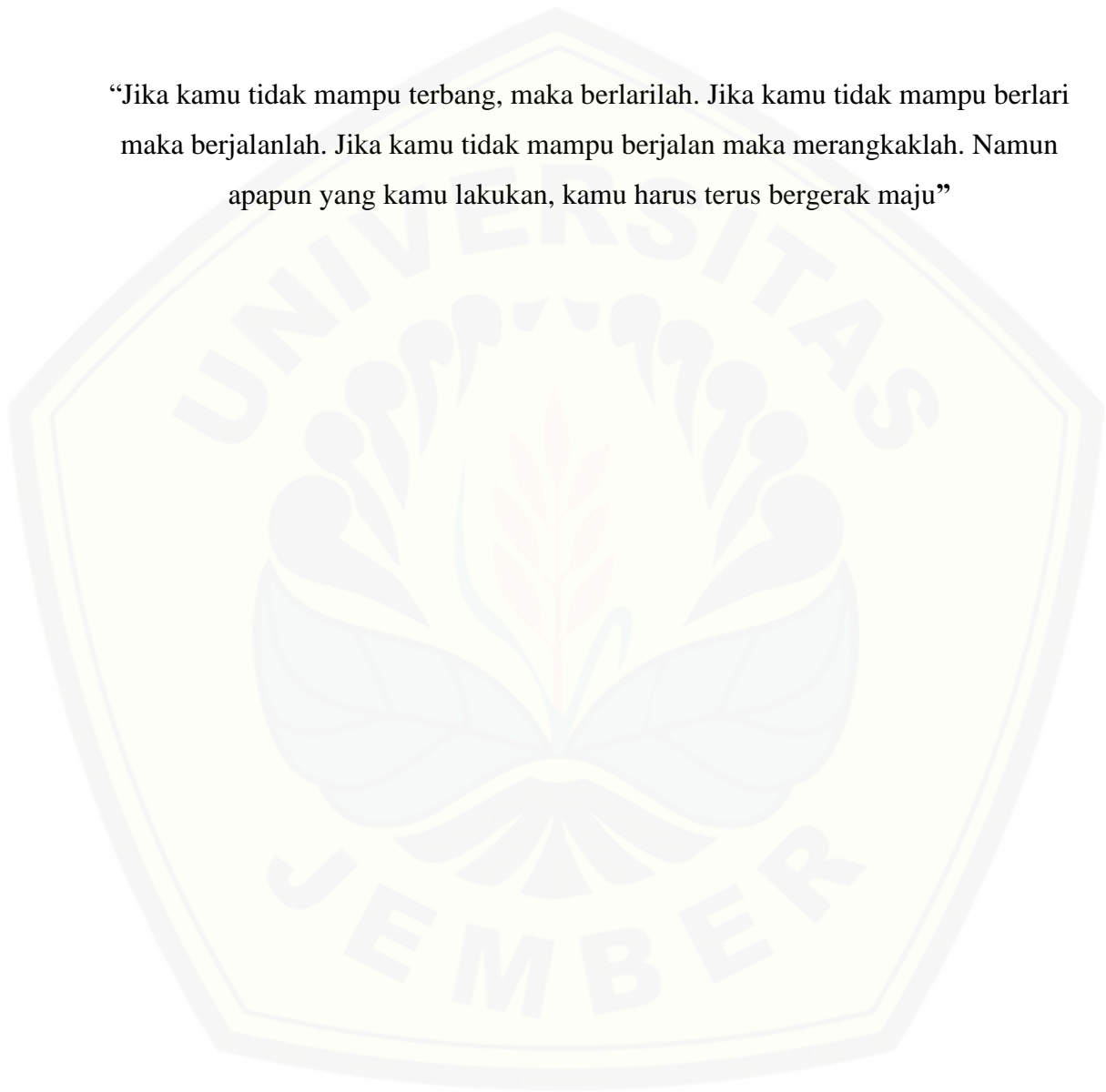
Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Ibunda tercinta Somi dan Ayahanda Satiman. Terimakasih banyak saya ucapkan atas segala do'a, semangat, bimbingan, nasehat, pengorbanan dan kasih sayang yang sampai saat ini tidak pernah berhenti tercurah sampai saya mampu menyelesaikan ini;
2. saudara sekandung saya Agus Pratikno, Andri Pramono, dan Ansor Prayogo yang senantiasa memberikan dukungan, arahan, pengalaman dan do'a;
3. kakak ipar saya Hartini dan Etty Wahyuni yang selalu memberikan do'a, dukungan dan semangat. Serta ketiga keponakan saya yang selalu merindukan kebersamaan saya di rumah (Wenny Silviana, Willy Sandy Alfiando dan Nafissa Anindya Aleya)
4. keluarga besar Alm. Matsari yang telah memberikan motivasi, dukungan, semangat, dan do'a terus menerus;
5. Drs. Achmad Sjaifullah, M.Sc., Ph.D., selaku Dosen Pembimbing Utama dan Dr. A. A. Istri Ratnadewi selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah meluangkan waktu, tenaga, pikiran, kasih sayang, dan do'a dalam membimbing penulis menyelesaikan penulisan skripsi ini;
6. Almamater SDN Dagangan 02, SMPN 01 Dagangan, SMAN 01 Dagangan, serta Jurusan Kimia Fakultas MIPA Universitas Jember.

**MOTTO**

*“If you can't fly, then run. If you can't run, then walk. If you can't walk, then crawl. But whatever you do, you have to keep moving forward”\*)*

“Jika kamu tidak mampu terbang, maka berlailah. Jika kamu tidak mampu berlari maka berjalanlah. Jika kamu tidak mampu berjalan maka merangkaklah. Namun apapun yang kamu lakukan, kamu harus terus bergerak maju”



---

\*) *Martin Luther King Jr.*

**PERNYATAAN**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Ayu Prastiyani

NIM : 151810301003

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “Enkapsulasi Kombinasi Prebiotik Xilooligosakarida dan Probiotik *Lactobacillus acidophilus* dengan Alginat-Pektin-Boraks sebagai Enkapsulan Target Kolon” adalah benar-benar hasil karya saya sendiri, kecuali kutipan substansi yang sudah saya sebutkan sebelumnya, belum pernah diajukan pada institusi manapun, dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa adanya tekanan dan paksaan dari pihak mana pun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 19 Januari 2020

Yang Menyatakan,

Ayu Prastiyani

NIM 151810301003

**SKRIPSI**

**ENKAPSULASI KOMBINASI PREBIOTIK  
XILOOLIGOSAKARIDA DAN PROBIOTIK *LACTOBACILLUS  
ACIDOPHILUS* DENGAN ALGINAT-PEKTIN-BORAKS  
SEBAGAI ENKAPSULAN TARGET KOLON**

Oleh

Ayu Prastiyani  
151810301003

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : Drs. Achmad Sjaifullah, M.Sc., Ph.D

Dosen Pembimbing Anggota : Dr. A.A. Istri Ratnadewi, S.Si., M.Si

## PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Enkapsulasi Kombinasi Prebiotik Xilooligosakarida dan Probiotik *Lactobacillus acidophilus* dengan Alginat-Pektin-Boraks sebagai Enkapsulan Target Kolon” Karya Ayu Prastiyani telah diuji dan disahkan pada :

hari, tanggal :

tempat : Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas  
Jember

Tim Penguji :

Ketua,

Anggota I,

Drs. Achmad Sjaifullah, M.Sc., Ph.D  
NIP. 195910091986021001

Dr. A.A. Istri Ratnadewi, S.Si., M.Si  
NIP. 197012251997022001

Anggota II,

Anggota III,

drh. Wuryanti Handayani, M.Si  
NIP. 196008221985032002

Ika Oktavianawati, S.Si., M.Sc  
NIP. 198010012003122001

Mengesahkan,  
Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam,

Drs. Achmad Sjaifullah, M.Sc., Ph.D  
NIP. 195910091986021001

## RINGKASAN

**Enkapsulasi Kombinasi Prebiotik Xilooligosakarida dan Probiotik *Lactobacillus acidophilus* dengan Alginat-Pektin-Boraks sebagai Enkapsulan Target Kolon;** Ayu Prastiyani, 151810301003; 2020: 74 halaman; Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.

Probiotik merupakan organisme yang dapat dicerna untuk meningkatkan kesehatan. Probiotik yang umum digunakan ialah bakteri penghasil asam laktat. Pertumbuhan dan aktivitas probiotik dapat dilakukan dengan menambahkan prebiotik. Xilooligosakarida (XOS) merupakan karbohidrat yang dapat dijadikan sebagai prebiotik (Grootaert *et al.*, 2007). Kemampuan untuk hidup probiotik dipengaruhi oleh beberapa faktor lingkungan seperti keberadaan oksigen, kerusakan mekanis, penyimpanan, suhu tinggi, pH yang terlalu asam dan pengaruh makanan yang ditambahkan (Kailasapathy, 2002; Krasaekoopt dan Watcharapoka, 2014; García-Ceja *et al.*, 2015). Enkapsulasi merupakan salah satu pendekatan yang dilakukan untuk memastikan daya tahan hidup probiotik (de Vos *et al.*, 2010).

Enkapsulasi yang dilakukan dalam penelitian ini menggunakan metode ekstruksi. Bahan inti dicampurkan dengan bahan enkapsulan kemudian diteteskan pada larutan  $\text{CaCl}_2$  sehingga membentuk konfigurasi telur (*egg box*) yang tidak larut. Bahan inti yang dienkapsulasi ialah kombinasi sinbiotik antara prebiotik xilooligosakarida dengan probiotik *Lactobacillus acidophilus*. Xilooligosakarida ditambahkan sebagai sumber karbon sehingga selama perjalanan dalam saluran pencernaan, bakteri *Lactobacillus acidophilus* akan memfermentasi xilooligosakarida menjadi asam laktat. Enkapsulan yang digunakan dalam penelitian ini adalah alginat-pektin dengan penambahan boraks komposisi optimum dari hasil optimasi boraks variasi konsentrasi 1%, 3%, dan 5%. Kemampuan *swelling* yang tinggi menunjukkan kemampuannya yang baik dalam pelepasan bahan inti pada saat target yang diinginkan, yaitu kolon. Boraks komposisi optimum kemudian ditambahkan sebagai bahan enkapsulan. Analisa



yang dilakukan ialah menghitung nilai efisiensi xilooligosakarida dan *Lactobacillus acidophilus* dan uji *in vitro* kestabilan *beads* dalam simulasi berbagai cairan simulasi cairan pencernaan berdasarkan kadar gula pereduksi dan jumlah koloni.

Hasil optimasi *swelling beads* variasi konsentrasi boraks 1%, 3%, dan 5% diperoleh tingkat *swelling* paling tinggi diperoleh pada penambahan boraks konsentrasi 1%, yaitu 756,93% pada buffer fosfat pH 7,4 sebagai cairan simulasi usus besar. Boraks konsentrasi paling optimum kemudian digunakan sebagai bahan enkapsulan. Analisa efisiensi enkapsulasi menunjukkan seberapa efisien enkapsulan dalam mengkapsul bahan inti dalam sebuah enkapsulasi. Efisiensi enkapsulasi dalam enkapsulan pektin-alginat-boraks diperoleh nilai efisiensi enkapsulasi xilooligosakarida sebesar 69,692% dan efisiensi *Lactobacillus acidophilus* sebesar 68,45%. Uji Kestabilan enkapsulan alginat-pektin-boraks secara *in vitro* menunjukkan kadar gula pereduksi yang semakin menurun seiring bertambahnya waktu dalam larutan simulasi saluran pencernaan. Kadar gula pereduksi pada cairan HCl pH 3,5 dari jam pertama 0,035 mg/mL menjadi 0,025 mg/mL pada jam kedua. Pada cairan buffer fosfat pH 5.6 yang merupakan cairan simulasi usus halus menunjukkan terjadinya penurunan kadar gula pereduksi dari jam pertama sebesar 0,032 mg/mL menjadi 0,027 mg/mL pada jam kedua. Pada cairan buffer fosfat pH 7.4 penurunan, yaitu sebesar 0,030 mg/mL pada jam pertama dan menjadi 0,019 mg/mL pada jam kedua. Pengujian ketahanan *beads* terhadap jumlah bakteri dalam cairan simulasi saluran lambung HCl pH 3,5 diperoleh jumlah koloni sebesar 6,16 log CFU/mL, buffer fosfat pH 5,6 dengan diperoleh jumlah koloni sebesar 6,19 log CFU/mL, dan kolon menggunakan buffer fosfat pH 7,4 diperoleh jumlah koloni sebesar 7,43 log CFU/mL.

## PRAKATA

Puji syukur kehadiran Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya, sehingga penulis mampu menyelesaikan dengan baik skripsi yang berjudul “Enkapsulasi Kombinasi Prebiotik Xilooligosakarida dan Probiotik *Lactobacillus acidophilus* dengan Alginat-Pektin-Boraks sebagai Enkapsulai Target Kolon”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat dalam menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis ingin menyampaikan terima kasih kepada:

1. Drs. Achmad Sjaifullah, M.Sc., Ph.D selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember;
2. Dr. Bambang Piluharto, S.Si.,M.Si., selaku ketua Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember;
3. Drs. Achmad Sjaifullah, M.Sc., Ph.D., selaku Dosen Pembimbing Utama dan Dr. A. A. Istri Ratnadewi selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah meluangkan waktu, tenaga, pikiran, kasih sayang, dan do’a dalam membimbing penulis menyelesaikan penulisan skripsi ini;
4. drh. Wuryanti Handayani, M.Si., selaku Dosen Penguji I dan Ika Oktavianawati, S.Si., M.Sc selaku Dosen Penguji II yang telah meluangkan waktu dan pikiran guna menguji dan memberi kritis serta saran demi kesempurnaan skripsi ini;
5. Drs. Achmad Sjaifullah, M.Sc., Ph.D., selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah memberikan saran dan motivasinya;
6. bapak dan ibu dosen serta staf Jurusan Kimia FMIPA Universitas Jember yang telah memberikan segenap ilmu dan pengalaman selama di Kimia;
7. teknisi-teknisi laboratorium Jurusan Kimia FMIPA Universitas Jember memperlancar proses terselesaikannya skripsi ini;

8. Kepala Laboratorium *Nutraceutical and Pharmaceutical* Laboratorium CDAST (*Centre of Development for Advance Science and Technology*) Universitas Jember;
9. Almamater SDN Dagangan 02, SMPN 01 Dagangan, SMAN 01 Dagangan, serta Jurusan Kimia Fakultas MIPA Universitas Jember ;
10. *partner* penelitian, Rosita Dwi Rahmawati dan teman-teman riset Biokimia M. Syehfu Aref G., Indras Dwi A., Ratna Kusuma D., Nasrul Amaliyatun N., serta Kamelia Rizqi F., dan teman-teman Lab N dan P. Terimakasih atas bantuan, kerjasama, perhatian, dan semangat yang selalu diberikan dalam perjalanan penyelesaian riset ini;
11. sahabat saya selama kuliah, Laili Nafis, Yayuk Sri W., Siti Aisyah, Ani Sofiyana, Budiarti Sentono P., Desi Dwi R., Nuril Laili M., Umi Jayanti, Ageliya Dwi .P, Sovia Masfuri, dan teman-teman inti kapid kadep 2017 yang selalu *mensupport* dan *solid* hingga saat ini. Serta, teman-teman SMA saya di Jember, Erna Zubaidah, Fitri Indah Sari, Winda Dwi L., dan Indasah Kumalasari. Terimakasih selalu mendukung, dan menyemangati hingga saat ini;
12. Mohamad Irfan terimakasih telah menjadi penyemangat, motivator, dan tempat saya berkeluh kesah semoga Allah selalu melindungi;
13. keluarga besar Chrypthon 2015, terimakasih atas segala dukungan dan bantuan yang ikhlas yang kalian berikan semoga dibalas oleh Allah;
14. serta semua pihak yang telah membantu saya dalam penyelesaian SKRIPSI ini yang tidak dapat disebutkan satu persatu saya ucapkan terimakasih tak terhingga.

Segala bentuk kritik dan saran yang bersifat membangun diharapkan dari semua pihak demi kesempurnaan skripsi ini. Akhirnya, penulis berharap skripsi ini dapat memberikan manfaat terhadap perkembangan ilmu pengetahuan, khususnya di bidang kimia.

Jember, 19 Januari 2020

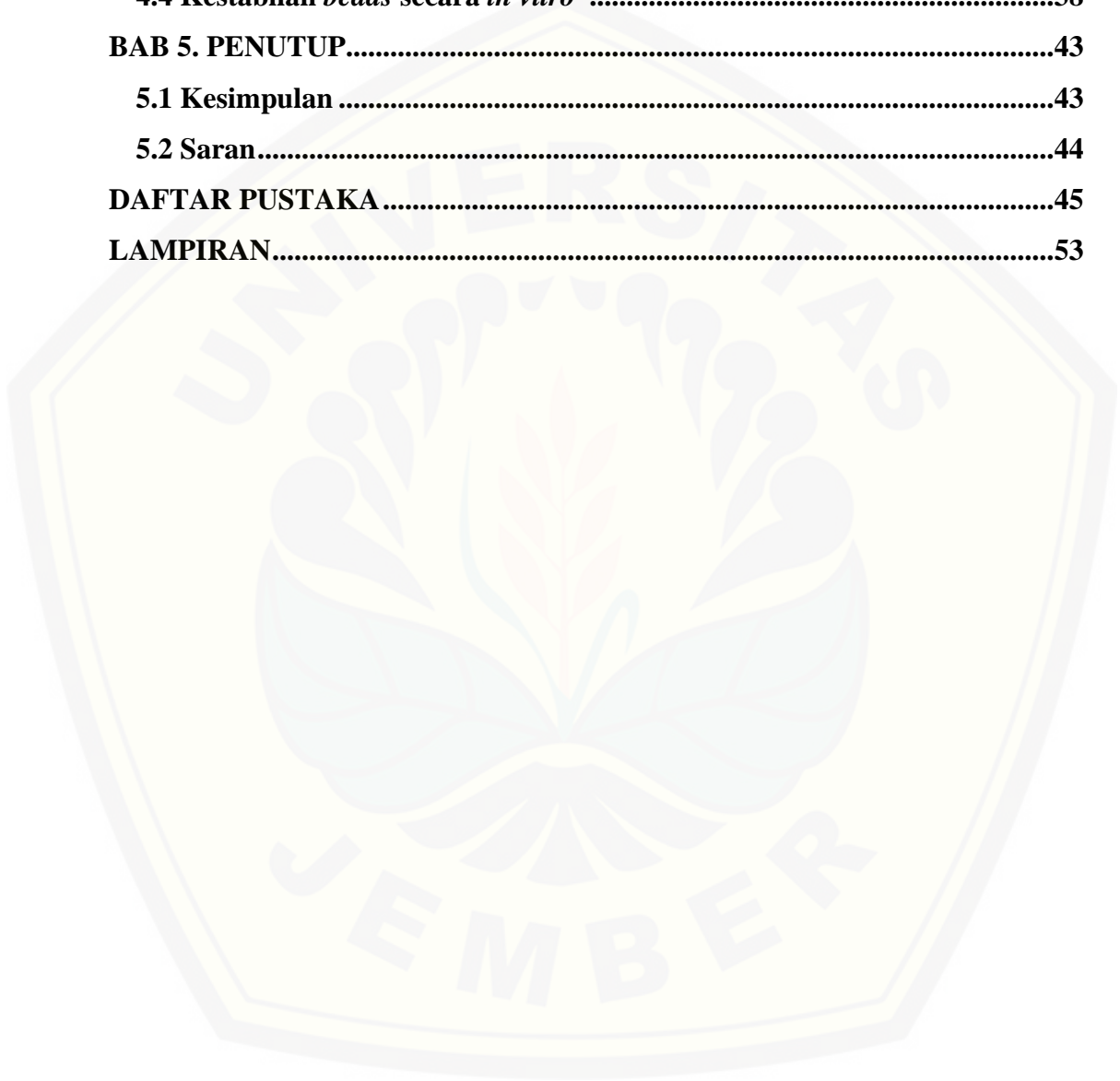
Penulis

DAFTAR ISI

|   | Halaman     |
|---|-------------|
| <b>HALAMAN JUDUL .....</b>                    | <b>i</b>    |
| <b>HALAMAN SAMPUL.....</b>                    | <b>ii</b>   |
| <b>HALAMAN PERSEMBAHAN .....</b>              | <b>iii</b>  |
| <b>HALAMAN MOTTO .....</b>                    | <b>iv</b>   |
| <b>HALAMAN PERNYATAAN.....</b>                | <b>v</b>    |
| <b>HALAMAN PEMBIMBING .....</b>               | <b>vi</b>   |
| <b>HALAMAN PENGESAHAN.....</b>                | <b>vii</b>  |
| <b>RINGKASAN .....</b>                        | <b>viii</b> |
| <b>PRAKATA.....</b>                           | <b>x</b>    |
| <b>DAFTAR ISI.....</b>                        | <b>xii</b>  |
| <b>DAFTAR TABEL .....</b>                     | <b>xv</b>   |
| <b>DAFTAR GAMBAR.....</b>                     | <b>xvi</b>  |
| <b>DAFTAR LAMPIRAN .....</b>                  | <b>xvii</b> |
| <b>BAB 1. PENDAHULUAN .....</b>               | <b>1</b>    |
| <b>1.1 Latar Belakang .....</b>               | <b>1</b>    |
| <b>1.2 Rumusan Masalah.....</b>               | <b>4</b>    |
| <b>1.3 Tujuan Penelitian .....</b>            | <b>4</b>    |
| <b>1.4 Batasan Masalah.....</b>               | <b>5</b>    |
| <b>1.5Manfaat Penelitian .....</b>            | <b>23</b>   |
| <b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA.....</b>           | <b>6</b>    |
| <b>2.1 Sinbiotik .....</b>                    | <b>6</b>    |
| 2.1.1 Prebiotik .....                         | 6           |
| a. Xilooligosakarida.....                     | 7           |
| 2.1.2 Probiotik.....                          | 9           |
| a. <i>Lactobacillus acidophilus</i> .....     | 12          |
| <b>2.2 Fermentasi Xilooligosakarida .....</b> | <b>12</b>   |
| <b>2.3 Enkapsulasi .....</b>                  | <b>15</b>   |
| 2.2.1 Metode Ekstruksi .....                  | 15          |

|   |           |
|---|-----------|
| <b>2.4 Alginat .....</b>  | <b>18</b> |
| <b>2.5 Pektin.....</b>  | <b>20</b> |
| <b>2.6 Boraks.....</b>  | <b>21</b> |
| <b>BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN.....</b>  | <b>22</b> |
| <b>3.1 Waktu dan Tempat Penelitian .....</b>  | <b>22</b> |
| <b>3.2 Alat dan Bahan .....</b>   | <b>22</b> |
| 3.2.1 Alat.....   | 22        |
| 3.2.2 Bahan .....   | 22        |
| <b>3.3 Diagram Alir .....</b>   | <b>24</b> |
| <b>3.4 Prosedur Penelitian .....</b>  | <b>25</b> |
| 3.4.1 Pembuatan alginat-pektin 2:1 (w/v).....   | 25        |
| 3.4.2 Pembuatan beads alginat-pektin-boraks konsentrasi 1%, 3%, dan<br>55%(w/v)-xilooligosakarida- <i>Lactobacillus acidophilus</i> ..... | 25        |
| a. Uji <i>Swelling</i> .....  | 25        |
| 3.4.3 Pembuatan beads alginat-pektin-boraks konsentrasi 1%, 3%, dan<br>55%(w/v)-xilooligosakarida- <i>Lactobacillus acidophilus</i> ..... | 26        |
| a. Efisiensi enkapsulasi.....   | 26        |
| b. Uji <i>in vitro</i> .....  | 27        |
| c. Analisis kadar gula pereduksi.....   | 27        |
| d. Analisis populasi <i>Lactobacillus acidophilus</i> .....   | 28        |
| 3.4.4 Pembuatan media, reagen, dan larutan.....   | 28        |
| a. Pembuatan media MRSA .....   | 28        |
| b. Pembuatan reagen DNS.....  | 28        |
| c. Pembuatan HCl pH 3,5 .....   | 29        |
| d. Pembuatan buffer fosfat pH 5,6.....  | 29        |
| e. Pembuatan buffer fosfat pH 7,4.....  | 29        |
| f. Pembuatan etanol 70% .....   | 29        |
| g. Pembuatan NaCl fisiologis 0,90% .....  | 29        |
| h. Pembuatan <i>pepton water</i> 0,01% .....  | 30        |
| i. Pembuatan natrium sitrat 0,1 M .....   | 30        |
| j. Pembuatan CaCl <sub>2</sub> 1% .....   | 30        |

|  |    |
|--|----|
| <b>BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN</b> .....   | 31 |
| 4.1 <i>Beads</i> alginat-pektin-boraks-xilooligosakarida- <i>L.acidophilus</i> ..... | 33 |
| 4.2 <i>Swelling</i> optimum variasi boraks.....                                      | 34 |
| 4.3 Efisiensi enkapsulasi .....  | 36 |
| 4.4 Kestabilan <i>beads</i> secara <i>in vitro</i> .....                             | 38 |
| <b>BAB 5. PENUTUP</b> .....  | 43 |
| 5.1 Kesimpulan .....   | 43 |
| 5.2 Saran.....   | 44 |
| <b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....  | 45 |
| <b>LAMPIRAN</b> .....  | 53 |



**DAFTAR TABEL**

|  | Halaman |
|--|---------|
| 2.1 Prebiotik oligosakarida, komposisi dan metode produksi.....  | 7       |
| 2.2 Jenis xilooligosakarida berdasarkan jumlah monomernya .....  | 8       |
| 2.3 Jenis-jenis oligosakarida berdasarkan monomernya.....  | 9       |
| 2.4 Spesies bakteri sumber probiotik .....   | 11      |
| 2.5 Jenis-jenis teknik enkapsulasi .....   | 17      |
| 3.1 Komposisi pectin-alginat-boraks variasi 1%, 3% dan 5% - xilooligosakarida-<br><i>L.acidophilus</i> ..... | 25      |
| 3.2 Komposisi pectin-alginat-boraks <i>swelling</i> optimum xilooligosakarida<br><i>L.acidophilus</i> .....  | 26      |
| 4.1 Persen <i>swelling beads</i> variasi konsentrasi boraks 1%, 3% dan 5% .....                              | 34      |
| 4.2 Persen Efisiensi Xilooligosakarida .....   | 36      |
| 4.3 Persen Efisiensi <i>Lactobacillus acidophilus</i> .....  | 37      |

**DAFTAR GAMBAR**

|   | Halaman |
|---|---------|
| 2.1 Struktur dasar xilooligosakarida .....  | 8       |
| 2.2 Sel <i>Lactobacillus acidophilus</i> .....  | 11      |
| 2.3 Jalur Fermentasi bakteri homofermentatif (Embden-Meyerhof-Parnas <i>Pathway</i> ) .....   | 14      |
| 2.4 Enkapsulasi dengan teknik ekstruksi .....   | 16      |
| 2.5 Struktur alginat .....  | 19      |
| 2.6 Gambar ikatan silang ionic alginat oleh blok GG/GG .....  | 19      |
| 2.7 Gambar ikatan silang ionic alginat oleh blok MG/MG .....  | 19      |
| 2.8 Gambar ikatan silang ionic alginat oleh blok GG/MG .....  | 19      |
| 2.9 Struktur Pektin .....   | 20      |
| 2.10 Struktur dasar Boraks .....  | 21      |
| 2.11 Konfigurasi telur polisakarida (alginat) dengan adanya boraks .....  | 21      |
| 4.1 Grafik perubahan kadar gula pereduksi pada xilooligosakarida secara <i>in vitro</i> dalam cairan simulasi saluran pencernaan .....    | 39      |
| 4.2 Grafik perubahan jumlah koloni <i>Lactobacillus acidophilus</i> secara <i>in vitro</i> dalam cairan simulasi saluran pencernaan ..... | 40      |



DAFTAR LAMPIRAN

|  | Halaman   |
|--|-----------|
| <b>3.1 Pembuatan Media, Reagen dan Larutan</b> .....                     | <b>53</b> |
| <b>3.1.1 Pembuatan Media</b> .....                                       | <b>53</b> |
| a. Media Cair MRSB .....   | 53        |
| b. Media Padat MRSA.....   | 53        |
| <b>3.1.2 Perhitungan pembuatan Larutan</b> .....                         | <b>54</b> |
| a. HCl pH 3.5.....   | 54        |
| b. Etanol 70% .....  | 54        |
| c. CaCl <sub>2</sub> 1%.....   | 54        |
| d. pepton <i>water</i> 0.1 % .....                                       | 54        |
| e. Natrium sitrat 0.1 M.....   | 55        |
| <b>4.1 Kurva Standar Penelitian</b> .....                                | <b>55</b> |
| <b>4.1.1 Kurva Standar Xilosa</b> .....                                  | <b>55</b> |
| <b>4.2 Optimasi <i>Swelling</i> Boraks konsnetrasi 1, 3 dan 5%</b> ..... | <b>57</b> |
| <b>4.2.1 Data Optimasi <i>Swelling beads</i></b> .....                   | <b>57</b> |
| <b>4.2.2 Perhitungan <i>Swelling beads</i></b> .....                     | <b>58</b> |
| <b>4.3 Data Hasil Pengamatan</b> .....                                   | <b>59</b> |
| <b>4.3.1 Efisiensi Enkapsulasi (%E)</b> .....                            | <b>59</b> |
| a. Efisiensi Enkapsulasi Bakteri <i>L.acidophilus</i> .....              | 59        |
| b. Efisiensi Enkapsulasi Xilooligosakarida .....                         | 61        |
| <b>4.3.2 Uji <i>in vitro</i></b> .....                                   | <b>63</b> |
| a. Jumlah Koloni Bakteri .....   | 63        |
| b. Kadar Gula Pereduksi .....  | 67        |
| <b>4.4 Dokumentasi penelitian</b> .....                                  | <b>70</b> |
| 4.4.1 Pembuatan enkapsulan/ <i>beads</i> .....                           | 70        |

|   |    |
|---|----|
| 4.4.2 Bahan Inti .....                              | 70 |
| 4.4.3 Uji <i>Swelling</i> dan <i>In vitro</i> ..... | 71 |
| 4.4.4 Koloni <i>Lactobacillus acidophilus</i> ..... | 72 |



## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Probiotik merupakan organisme hidup yang dapat dicerna untuk meningkatkan kesehatan. Probiotik yang dicerna dalam jumlah yang cukup akan memberikan efek yang baik bagi kesehatan (FAO/WHO, 2001). Probiotik yang umum digunakan ialah bakteri penghasil asam laktat. Bakteri asam laktat sering ditemui pada peternakan sapi perah, tumbuhan, dan usus hewan (Muller, 2001). Probiotik dalam pencernaan memberi manfaat seperti, meningkatkan kekebalan tubuh, memelihara mikroflora mukosa, dan produksi enzim penting dalam pencernaan (Holzapfel dan Schillinger, 2002). Pertumbuhan dan aktivitas probiotik dapat dilakukan dengan menambahkan prebiotik. Prebiotik berperan sebagai suplemen yang dapat merangsang pertumbuhan probiotik. Prebiotik memberikan asupan karbohidrat yang dapat difermentasi oleh bakteri probiotik di usus besar (Gibson *et al.*, 2004).

Prebiotik merupakan bahan fermentasi selektif yang mampu memberikan perubahan spesifik pada komposisi dan aktivitas dalam mikroflora gastrointestinal (Gibson *et al.*, 2004). Prebiotik dapat mempengaruhi inangnya secara selektif dalam merangsang proses pertumbuhan dan aktivitas sejumlah bakteri di dalam kolon (usus besar) (Gibson *et al.*, 2010). Prebiotik yang sering dipelajari hingga saat ini antara lain, inulin, fruktooligosakarida (FOS), oligosakarida kedelai (SOS), galaktooligosakarida (GOS), xilooligosakarida (XOS), dekstrin, isomaltooligosakarida (IMO) dan laktulosa (FAO, 2007). Xilooligosakarida (XOS) merupakan karbohidrat yang dapat dijadikan sebagai prebiotik (Grootaert *et al.*, 2007). Xilooligosakarida berpotensi besar sebagai agen yang mampu mempertahankan dan meningkatkan keseimbangan mikroflora dalam usus untuk meningkatkan kesehatan (Aachary dan Prapulla, 2010).

Rahma (2016) telah melakukan fermentasi xilooligosakarida yang berasal dari ampas singkong oleh *Lactobacillus acidophilus*. Xilooligosakarida dijadikan sebagai media modifikasi dengan variasi konsentrasi 1%, 3%, dan 5%. Hasil yang

diperoleh menunjukkan bahwa pertumbuhan *Lactobacillus acidophilus* tertinggi sebesar 8,61 log CFU/ml pada konsentrasi XOS sebesar 5%. Fermentasi xilooligosakarida oleh mikroorganisme dapat menghasilkan asam lemak rantai pendek yang memiliki manfaat bagi tubuh seperti, melindungi usus dari bakteri patogen, mengurangi kanker usus, radang usus, dan penyakit Chrons (Fukuda *et al.*, 2011 dalam Lim *et al.*, 2014).

Prebiotik xilooligosakarida dikembangkan dengan mengkombinasikan bakteri baik sebagai probiotik. Kombinasi prebiotik dan probiotik disebut simbiosis (Yeo *et al.*, 2010). Krasaekoopt *et al.*, (2004) menyatakan bahwa harus dilakukan penggabungan mikroorganisme dengan prebiotik alami untuk meningkatkan perlindungan dan kelangsungan hidup mikroorganisme. Prebiotik digunakan sebagai substrat metabolik yang menjadi sumber energi dan sumber nutrisi mikro bagi mikroorganisme (Chavarri *et al.*, 2010). Kemampuan untuk hidup probiotik dipengaruhi oleh beberapa faktor lingkungan seperti keberadaan oksigen, kerusakan mekanis, penyimpanan, suhu tinggi, pH yang terlalu asam dan pengaruh makanan yang ditambahkan (Kailasapathy, 2002; Krasaekoopt dan Watcharapoka, 2014; García-Ceja *et al.*, 2015).

Enkapsulasi merupakan salah satu pendekatan yang dilakukan untuk memastikan daya tahan hidup probiotik. Pendekatan ini mampu membantu melindungi daya tahan hidup probiotik, fungsionalitas sel selama pemrosesan, penyimpanan, dan pengiriman dalam saluran pencernaan manusia (de Vos *et al.*, 2010). Teknik enkapsulasi dibedakan berdasarkan ukuran partikel yang dihasilkan. Partikel yang memiliki ukuran 0,2-5000  $\mu\text{m}$  dapat menggunakan teknik mikroenkapsulasi, partikel dengan ukuran  $>5000 \mu\text{m}$  menggunakan teknik makroenkapsulasi, sedangkan teknik nanoenkapsulasi digunakan apabila partikel berukuran  $<0,2 \mu\text{m}$  (Jafari, 2017). Polisakarida banyak digunakan sebagai enkapsulan karena mudah dimodifikasi sesuai sifat yang dibutuhkan yaitu, biodegradable dan biokompatibel. Karbohidrat yang umum digunakan dalam enkapsulasi berdasarkan kemampuan menghantarkan antara lain selulosa, pati, lipid, protein, alginat, dan gum (Jyothi *et al.*, 2012)).

Alginat merupakan polisakarida linier yang terdiri dari ikatan  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 4)-D asam-mannuronat (M) dan  $\alpha$ -(1 $\rightarrow$ 4)-L asam-guluronat (G). Alginat mampu menghasilkan gel dengan kation divalen seperti kalsium karena memiliki toksisitas yang rendah dalam bidang pangan (Nussinovitch, 1997). Pektin memiliki kemampuan yang sama dengan alginat untuk membentuk *beads*. Pektin dan alginat yang telah dilarutkan dapat menjadi bentuk yang tidak larut oleh ikatan silang polimer dengan kation polivalen membentuk suatu konfigurasi telur (*egg box*). Pektin telah banyak diterapkan sebagai matriks dalam pengiriman obat spesifik kolon (H.H Gadalla *et al.*, 2015) dan dapat mengaktifkan enzim pada saluran pencernaan atas seperti amilase dan protease, sehingga ia dapat dicerna oleh pektinase di dalam kolon. Lyer dan Kailashapaty (2005) telah melakukan ko-enkapsulasi probiotik dengan prebiotik yang berasal dari amilum dengan pelapis kitosan. Probiotik dengan adanya pati mampu bertahan lebih baik dibandingkan enkapsulasi tanpa prebiotik.

Enkapsulasi antidiabetik repaglinid yang mudah terdegradasi telah dilakukan dengan menggunakan matrik alginat-pektin dengan ikatan silang (Awasthi *et al.*, 2017). Hasil yang ditunjukkan tidak ada interaksi antara obat dengan enkapsulan sehingga sistem enkapsulan tersebut berpotensi untuk agen penghantar yang diserap sepanjang saluran pencernaan. Pektin stabil terhadap enzim yang ada di lambung dan usus, namun terdegradasi sempurna oleh enzim di kolon. Menurut Awasthi *et al.*, (2017) dan Wenzel *et al.*, (1990) Portulaca atau polisakarida yang menyerupai pektin bersifat hidrofilik dan memiliki kemampuan membengkak (*swelling*) secara alami yang mengakibatkan terjadinya pelepasan sebelum waktunya. Sehingga, Asnani *et al.*, (2018) menambahkan boraks sebagai pengikat silang pektin target pelepasan di kolon. Hasil yang diperoleh dari penambahan boraks menunjukkan kemampuan membengkak (*swelling*) dengan adanya boraks mampu mencapai 300% pada pH 7,4 (kolon). Uji *in vitro* pelepasan dengan berbagai pH pencernaan menunjukkan pelepasan maksimum ( $\pm 100\%$ ) terjadi pada pH 7,4. Boraks yang dilarutkan akan menghasilkan asam borat dan ion borat. Ion borat merupakan agen pengikat silang yang efektif

digunakan untuk polimer yang mengandung gugus hidroksi (Shibayama *et al.*, 1988).

Berdasarkan pernyataan tersebut, maka perlu dilakukan enkapsulasi berbasis polisakarida menggunakan alginat-pektin dan boraks sebagai enkapsulan agar distribusi dan pelepasan dapat terjadi secara tepat di kolon. Penelitian yang akan dilakukan adalah melakukan enkapsulasi kombinasi prebiotik xilooligosakarida dari ampas singkong dan probiotik *Lactobacillus acidophilus* dalam enkapsulan pektin-alginat-boraks. Kemampuan enkapsulan dapat dianalisa berdasarkan efisiensinya dalam memerangkap bahan inti, serta uji *in vitro* untuk mengetahui kestabilan hasil enkapsulasi terhadap pH saluran pencernaan lambung dan usus halus hingga mencapai target kolon. Nilai efisiensi dan uji *in vitro* didasarkan oleh jumlah koloni bakteri dan kadar gula pereduksi.

## 1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini adalah :

1. Berapakah konsentrasi paling optimum dari boraks konsentrasi 1%, 3%, dan 5% untuk meningkatkan *swelling beads*?
2. Bagaimana efisiensi enkapsulasi prebiotik xilooligosakarida dan probiotik *Lactobacillus acidophilus* dalam enkapsulan alginat-pektin-boraks ditinjau berdasarkan jumlah koloni dan kadar gula pereduksi ?
3. Bagaimana kestabilan enkapsulan alginat-pektin-boraks secara *in vitro* dalam berbagai pH saluran pencernaan ditinjau berdasarkan jumlah koloni dan kadar gula pereduksi ?

## 1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah :

1. Untuk mengetahui konsentrasi paling optimum dari boraks konsentrasi 1%, 3%, dan 5% untuk meningkatkan *swelling beads*
2. Untuk mengetahui efisiensi enkapsulasi prebiotik xilooligosakarida dan probiotik *Lactobacillus acidophilus* dalam enkapsulan alginat-pektin-boraks ditinjau berdasarkan jumlah koloni dan kadar gula pereduksi

3. Untuk mengetahui kestabilan enkapsulan alginat-pektin-boraks secara *in vitro* dalam berbagai pH saluran pencernaan ditinjau berdasarkan jumlah koloni dan kadar gula pereduksi

#### 1.4 Batasan Masalah

Batasan masalah dalam penelitian ini adalah :

1. XOS yang digunakan dalam penelitian ini berasal dari ampas singkong
2. XOS yang dikombinasikan dengan *Lactobacillus acidophilus* sebesar 5% dari volume total larutan
3. *Lactobacillus acidophilus* yang digunakan merupakan isolat komersil dari Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember
4. *Lactobacillus acidophilus* yang dikombinasikan dengan XOS sebesar 5% dari volume total larutan
5. Pektin, alginat dan boraks yang digunakan komersial

#### 1.5 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah menjadi sumber informasi tentang keuntungan enkapsulasi xilooligosakarida bersumber dari ampas singkong dan *Lactobacillus acidophilus* dalam alginat-pektin-boraks berbasis enkapsulasi pangan fungsional yang tahan terhadap pH saluran pencernaan lambung dan usus halus, sehingga mencapai pelepasan yang tepat di kolon.

## BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Sinbiotik

Sinbiotik merupakan proses penggabungan antara probiotik dengan prebiotik (Winarti, 2010). Sinbiotik berarti terdapat dalam probiotik dan prebiotik dalam suatu makanan. Prebiotik dalam hal ini memiliki dampak positif terhadap mikroflora dalam usus. Kombinasi antara probiotik dengan prebiotik akan meningkatkan daya tahan hidup bakteri probiotik karena adanya prebiotik sebagai substrat untuk fermentasi sehingga mampu meningkatkan kesehatan tubuh (Collins dan Gibson, 1999)

#### 2.1.1 Prebiotik

Prebiotik merupakan bahan makanan yang tidak dapat dicerna yang memberikan pengaruh terhadap inang dengan memicu pertumbuhan atau aktivitas sejumlah mikroorganisme di dalam kolon (Antarini, 2011). Prebiotik dapat difermentasi secara selektif sehingga mampu mengalami perubahan komposisi dan aktivitas dalam pencernaan, sehingga mampu memberikan manfaat bagi kesehatan (Gibson *et al.*, 2004). Bahan makanan dapat dijadikan prebiotik apabila memenuhi syarat berbasis ilmiah, diantaranya:

- a. Tahan terhadap keasaman lambung
- b. Tidak terhidrolisis oleh enzim pada saluran pencernaan atas
- c. Tidak diserap dalam usus halus
- d. Mampu difermentasi oleh mikroorganisme pada usus besar
- e. Mampu menstimulasi pertumbuhan atau aktivitas mikroorganisme pada usus secara selektif sehingga mampu meningkatkan kesehatan

(Gibson dan Roberfroid, 2005).

Sumber utama prebiotik berasal dari jaringan dan karbohidrat, seperti pati, dedak gandum, inulin atau oligosakarida rantai pendek lain yang memiliki ikatan glikosida seperti fruktooligosakarida atau galaktooligosakarida (Gibson *et al.*, 2010). Fruktooligosakarida (FOS), galaktooligosakarida (GOS), dan laktulosa sejauh ini telah digolongkan kedalam jenis prebiotik yang berasal dari karbohidrat (Gibson *et al.*, 2004). Xilooligosakarida (XOS), isomaltooligosakarida (IMO),



laktitol, dan kelompok oligosakarida rafinosa (RFO) juga di evaluasi sebagai sumber probiotik (Macfarlane *et al.*, 2006).

Tabel 2. 1 Prebiotik oligosakarida, komposisi dan metode produksi

| Nama                         | Komposisi kimia  | Metode produksi                                      | Derajat Polimerisasi |
|------------------------------|--|--|----------------------|
| Inulin,                      | $\beta$ (2-1)Fruktan                                       | Ekstraksi akar tanaman sawi putih                    | 11-65                |
| Fruktooligosakarida (FOS)    | $\beta$ (2-1)Fruktan                                       | Transfruktosilasi dari hidrolisis inulin sawi putih  | 2-10<br>3-5          |
| Galaktooligosakarida (GOS)   | Oligogalaktosa (85%), laktosa dan glukosa                  | Diproduksi dari laktosa oleh $\beta$ – galaktosidase | 2-5                  |
| Xilooligosakarida (XOS)      | $\beta$ (1-4) Xilosa                                       | Hidrolisis enzimatik xilan                           | 2-4                  |
| Isomaltooligosakarida (IMO)  | $\alpha$ (1-4) glukosa dan bercabang $\alpha$ (1-6)glukosa | Transgalaktosilasi maltosa                           | 2-8                  |
| Oligosakarida kacang kedelai | Campuran rafinosa (F-Gal-G) dan stasiosa (F-Gal-Gal-G)     | Diekstrak dari biji kedelai                          | 3-4                  |

Sumber: (Macfarlane *et al.*, 2006).

a. Xilooligosakarida

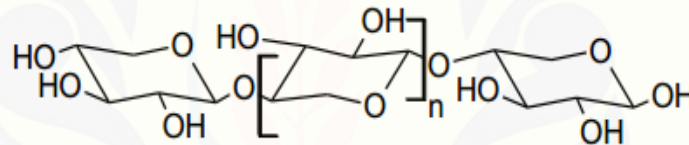
Xilooligosakarida merupakan oligomer glukosa yang terdiri dari unit-unit xilosa yang dihubungkan oleh ikatan  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 4) (Aachary dan Prapulla, 2008). Xilooligosakarida merupakan karbohidrat yang memiliki sifat fisik berupa berat molekul sebesar 282-810 ( $X_2$  hingga  $X_6$ ), berbentuk padatan kristal yang memiliki warna sesuai dengan sumber xilan. Struktur xilooligosakarida bermacam-macam meliputi unit monomernya, derajat polimerisasinya, dan jenis ikatannya (Aachary dan Prapulla, 2010). Nama xilooligosakarida berbeda-beda berdasarkan jumlah monomernya dari 2-6 (Kumar *et al.*, 2012). Berikut ini merupakan beberapa jenis xilooligosakarida berdasarkan jumlah monomernya:

Tabel 2. 2 Jenis xilooligosakarida berdasarkan jumlah monomernya

| Derajat Polimerisasi (DP) | Nama        |
|---------------------------|-------------|
| 2                         | Xilobiosa   |
| 3                         | Xilotriosa  |
| 4                         | Xilotetrosa |
| 5                         | Xilopentosa |
| 6                         | Xiloheksosa |

(Sumber: Samanta *et al.*, 2015).

Xilooligosakarida secara umum mempunyai rasa yang pahit namun tidak berbau menyengat. Xilooligosakarida mempunyai titik pengurai pada suhu 120°C dan titik leleh pada suhu 134°C (Samanta *et al.*, 2015). Xilooligosakarida merupakan salah satu jenis oligosakarida yang berasal dari tumbuh-tumbuhan seperti kacang kedelai yang diperoleh dengan cara hidrolisis (Murphy, 2001). Struktur xilooligosakarida dari hasil hidrolisis xilan oleh enzim ditunjukkan pada Gambar 2.1



Gambar 2. 1 Struktur dasar xilooligosakarida

(Sumber: Kumar *et al.*, 2012).

Xilooligosakarida merupakan kelompok oligosakarida yang memiliki banyak kegunaan dalam bidang teknologi, kesehatan, serta berbagai penelitian tentang efek psikologisnya dalam bidang kesehatan (Gibson dan Roberfroid, 1995; Gibson *et al.*, 2004). Oligosakarida merupakan kelompok polimer karbohidrat penting yang dapat ditemukan dalam bentuk bebas ataupun bergabung membentuk suatu organisme hidup. Menurut IUB-IUPAC oligosakarida dapat didefinisikan sebagai oligomer yang tersusun atas 2-10 residu monosakarida yang terikat oleh ikatan glikosidik. Oligosakarida dapat dihidrolisis oleh asam atau enzim tertentu membentuk monomer-monomernya (Nakakuki T., 2002). Oligosakarida secara alami dapat ditemukan dalam sayuran, buah-buahan, madu dan susu (Aachary AA, 2009; Nakakuki T., 2002).

Tabel 2. 3 Jenis-jenis oligosakarida berdasarkan sumbernya

| Jenis Oligosakarida           | Sumber               | Proses Produksi dalam Industri            |
|-------------------------------|----------------------|---|
| Laktulosa                     | Susu sapi            | Isomerisasi laktosa                       |
| Laktosukrosa,<br>glikosukrosa | Bit                  | Ekstraksi dan<br>transglikosilasi sukrosa |
| Xilooligosakarida             | Kacang kedelai       | Hidrolisis polixilan                      |
| Stakiosa, Rafinosa            | Bit, kacang kedelai  | Sintesis dari pati                        |
| Fruktooligosakarida           | Buah-buahan, sayuran | Sintesis dan ekstraksi<br>sakarosa        |
| Galaktooligosakarida          | ASI, susu sapi       | Sintesis enzimatis dari<br>laktosa        |

(Sumber : Murphy, 2001).

Xilooligosakarida memiliki potensi luar biasa sebagai probiotik, selain itu ia juga memiliki manfaat luar biasa dalam peningkatan fungsi usus (Swennen K *et al.*, 2006). Xilooligosakarida memiliki efek utama dalam meningkatkan pertumbuhan bakteri probiotik (Okazaki *et al.*, 1990). Bakteri probiotik yang terbukti tumbuh efektif pada xilosa, xilobiosa, xilotrosa antara lain yaitu, *B. adolescentis*, *B. bifidum*, *B. infantis*, *B. longum*, *L. casei*, dan *L. acidophilus*. Namun, xilooligosakarida menghambat pertumbuhan *Clostridium perfringens*, *Bacteroides fragilis*, *E. coli*, *Staphylococcus aureus*, dan *Salmonella typhumurium*. Bakteri probiotik *L. plantarum* diketahui dapat memanfaatkan xilooligosakarida secara *in vitro* (Kontula *et al.*, 1998).

### 2.1.2 Probiotik

Probiotik merupakan organisme hidup yang dapat dicerna untuk tujuan peningkatan kesehatan. Menurut WHO apabila probiotik dicerna dalam jumlah yang cukup, maka ia akan memberikan efek yang baik bagi kesehatan bagi inangnya (FAO/WHO, 2002). Probiotik dapat bersumber dari bakteri maupun ragi. Probiotik merupakan sekumpulan/kelompok bakteri asam laktat yang mampu meningkatkan kesehatan manusia apabila dikonsumsi secara teratur dengan jumlah yang mencukupi. Jumlah konsumsi probiotik yang disarankan adalah  $10^8$  sel (Ananta *et al.*, 2005). Probiotik penghasil asam laktat yang umum digunakan adalah *Lactobacillus* dan *Bifidobacteria*. *Lactobacillus* merupakan salah satu jenis bakteri penghasil asam laktat. Ciri-ciri *Lactobacillus* secara umum ialah merupakan bakteri gram positif, memiliki bentuk bulat atau membentuk

sebuah rantai, non motil, tidak membentuk spora, anaerob fakultatif dan katalase negatif. Secara fisik, *Lactobacillus* memiliki ukuran antara 0,6-0,9x1,5-6,0 $\mu$ m, berwarna krem atau putih susu, berbentuk bulat, halus dan cembung. Syarat probiotik yang baik yaitu dapat bertahan pada kondisi lambung dan empedu, sehingga ia dapat melewati usus halus dan mencapai usus besar untuk mengerahkan efeknya.

Manfaat yang diberikan oleh probiotik bergantung pada profil pengaruh mikroba usus dan mikrobiota dalam usus. Probiotik dapat memulihkan bakteri non-patogen pada pencernaan, mencegah kolonisasi pada pencernaan oleh bakteri pathogen, meningkatkan kekebalan tubuh, dan menurunkan hiperpermeabilitas pada usus (Guarner F *et al.*, 2012). Bakteri asam laktat merupakan bakteri yang dapat digunakan sebagai probiotik. Bakteri asam laktat digunakan sebagai probiotik karena bersifat gram positif, non patogenik, nontoksik, tidak membentuk spora, anaerob, dan mampu menghasilkan asam laktat sebagai produk fermentasi dengan karbohidrat (Axelsson, 2004). Bakteri asam laktat yang termasuk probiotik dan yang tidak termasuk probiotik dapat dibedakan. Bakteri asam laktat yang termasuk probiotik memiliki keunggulan dalam menyerap nutrisi dan sisi penempelan pada epitel usus, mampu menstimulasi sistem imun dan mengubah aktivitas mikroba dalam sistem pencernaan (Antarini, 2011). Bakteri yang dapat dijadikan sebagai probiotik dapat dilihat pada Tabel 2.4.

Tabel 2. 4 Spesies bakteri sumber probiotik

| Spesies bakteri asam laktat                              |                                     |                                    | Bukan spesies bakteri asam laktat            |
|--|-------------------------------------|------------------------------------|--|
| <i>Lactobacillus</i>                                     | <i>Bifidobacterium</i>              | <i>Spesies lainnya</i>             |  |
| <i>Lactobacillus acidophilus</i>                         | <i>Bifidobacterium adolescentis</i> | <i>Enterococcus faecalis</i>       | <i>Bacillus cereus</i><br><i>var. toyoi</i>  |
| <i>Lactobacillus casei</i>                               | <i>Bifidobacterium animalis</i>     | <i>Enterococcus faecium</i>        | <i>Eschericia coli</i><br><i>Nissle 1917</i> |
| <i>Lactobacillus amylovorus</i>                          | <i>Bifidobacterium bifidum</i>      | <i>Lactococcus lactis</i>          | <i>Propionibacterium freudenreichii</i>      |
| <i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>Bulgarius</i> | <i>Bifidobacterium breve</i>        | <i>Leuconostoc mesentetoides</i>   | <i>Saccharomyces cereviceae</i>              |
| <i>Lactobacillus gallinarum</i>                          | <i>Bifidobacterium infantis</i>     | <i>Pediococcus acidolactiti</i>    | <i>Saccharomyces boulardii</i>               |
| <i>Lactobacillus gasseri</i>                             | <i>Bifidobacterium lactis</i>       | <i>Streptococcus thermophilus</i>  |  |
| <i>Lactobacillus johnsonii</i>                           | <i>Bifidobacterium longum</i>       | <i>Sporolactobacillus inulinus</i> |  |
| <i>Lactobacillus paracasei</i>                           |                                     |                                    |  |
| <i>Lactobacillus plantarum</i>                           |                                     |                                    |  |
| <i>Lactobacillus reuteri</i>                             |                                     |                                    |  |
| <i>Lactobacillus rhamnosus</i>                           |                                     |                                    |  |

(Sumber :Antarini, 2011).

a. *Lactobacillus acidophilus*

Bakteri *Lactobacillus acidophilus* merupakan salah satu bakteri asam laktat yang menghasilkan produk asam laktat dengan memfermentasi laktosa (gula susu) yang digunakan sebagai probiotik. *Lactobacillus acidophilus* termasuk kedalam spesies bakteri *Lactobacillus*. Bakteri *Lactobacillus acidophilus* merupakan bakteri gram positif, anaerob fakultatif/ toleran pada kondisi aerob, mesofilik, non motil, homofermentatif, katalase negatif, non motil, berbentuk batang, dan tidak membentuk spora. Bakteri *Lactobacillus acidophilus* normal dalam mikroflora intestinal, sehingga disebut sebagai bakteri yang mampu memproduksi biotin dan vitamin K. *Lactobacillus acidophilus* pada beberapa kondisi mampu mengalami penurunan dan populasinya habis secara drastis (Rosenfeldt V et al., 2002). *Lactobacillus acidophilus* tumbuh baik pada suhu 30-45°C dan tidak mampu tumbuh pada suhu dibawah 15°C (Jones, 1999). *Lactobacillus acidophilus* dapat memfermentasi substrat seperti galaktosa, maltosa, selobiosa, glukosa, sukrosa, laktosa, aeskulin dan salikin. Penggunaan *Lactobacillus acidophilus* telah banyak digunakan dalam dunia industri, salah satunya dalam industri susu. Produk susu yang dihasilkan dari fermentasi oleh bakteri *Lactobacillus acidophilus* memiliki efek terapeutik pada saluran pencernaan (Hidayat et al., 2006).



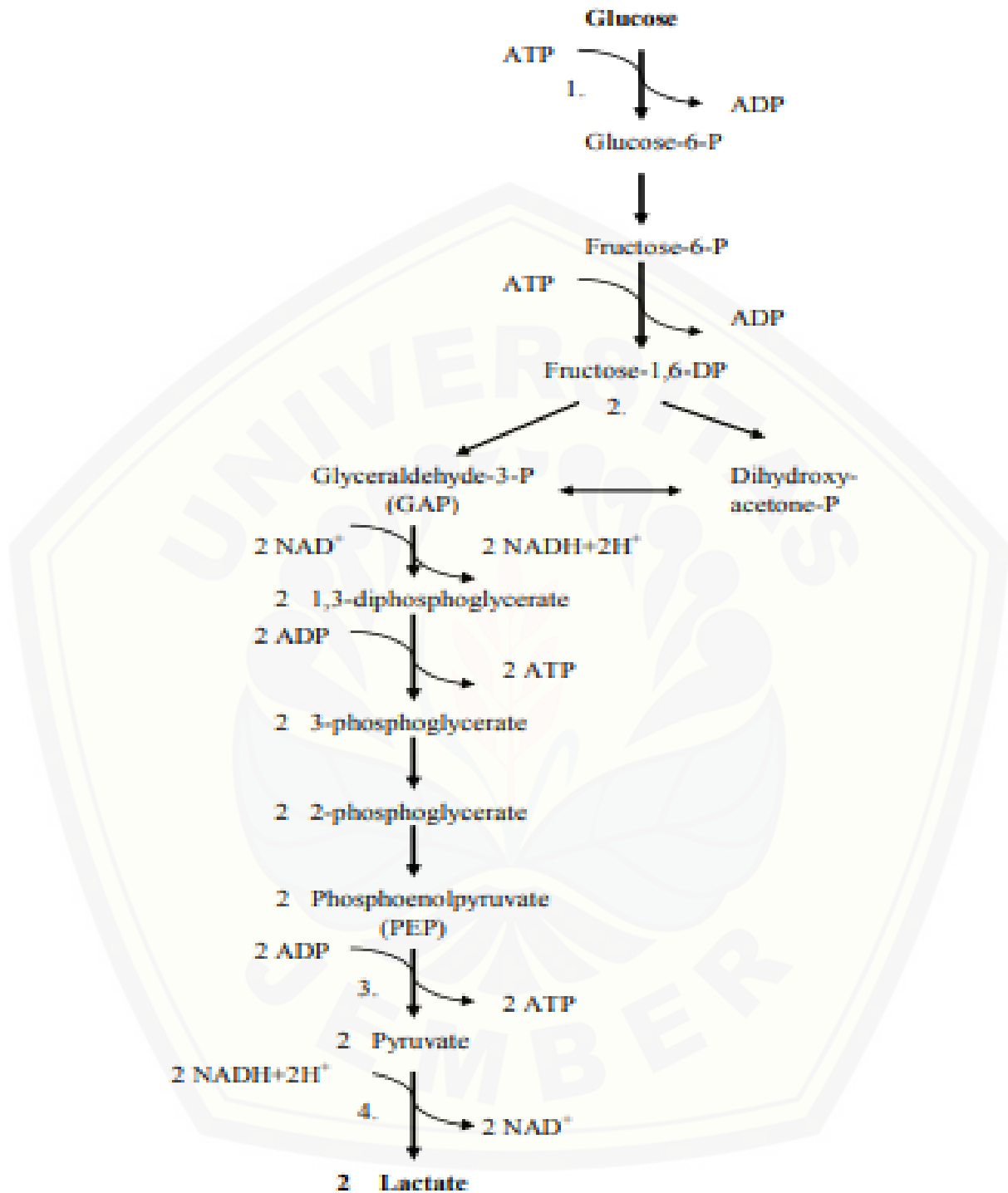
Gambar 2. 2 Sel *Lactobacillus acidophilus*

(Sumber: [www.sigmaldrich.com](http://www.sigmaldrich.com))

## 2.2 Fermentasi Xilooligosakarida

Xilooligosakarida merupakan salah satu jenis oligosakarida yang mampu dijadikan sebagai prebiotik. Xilooligosakarida memiliki efek utama dalam meningkatkan pertumbuhan bakteri probiotik. Xilooligosakarida sebagai sumber

karbon mampu difermentasi oleh bakteri asam laktat menghasilkan produk asam laktat. *Lactobacillus acidophilus* termasuk kedalam spesies bakteri *Lactobacillus*. *Lactobacillus* sebagai probiotik mampu memutuskan ikatan  $\beta$ -1,4-glikosida pada xilooligosakarida dengan adanya enzim  $\beta$ -D-xilosidase (Moura *et al.*, 2008). Xilooligosakarida sebagai prebiotik akan dibawa ke dalam sel mikroba. Xilooligosakarida di dalam sel mikroba akan dipecah melalui ikatan  $\beta$ -1,4-glikosida menyebabkan struktur xilooligosakarida menjadi monomer-monomer D-xilosa. Monomer D-xilosa kemudian diubah menjadi D-xilulosa oleh D-xilosa keto-isomerase. D-xilulosa kemudian diubah menjadi D-xilulosa 5-fosfat oleh adanya ATP dan D-xilulosa 5-fosfotransferase (Kandler, 1983). D-xilulosa 5-fosfat kemudian diubah menjadi asetil fosfat dan gliseraldehida 3-fosfat. Asetil fosfat menghasilkan asetil-CoA dan diubah menjadi etanol, dan gliseraldehida diubah melalui jalur glikolisis menjadi asam laktat (Aarnikunnas, 2006).



Gambar 2. 3 Fermentasi bakteri homofermentatif (Embden-Meyerhof-Parnas Pathway)

(Sumber : Axelsson, 2004)



### 2.3 Enkapsulasi

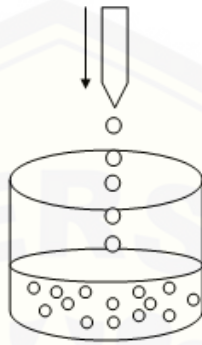
Enkapsulasi merupakan suatu teknologi yang bertujuan untuk melindungi zat padat, cair ataupun gas dalam suatu matriks. Sehingga, pada kondisi tertentu dapat melepaskan muatannya pada keadaan yang terkendali (Nedvoic et al., 2010). Enkapsulasi merupakan metode pelapisan inti yang melibatkan bahan aktif. Bahan yang dapat melapisi inti terdapat banyak di alam tergantung jenis dan sifatnya. Kriteria yang penting dalam pemilihan bahan (enkapsulan) yaitu fungsionalitas, potensial, konsentrasi, metode, stabilitas dan batasan biaya. Bahan yang paling banyak digunakan yaitu polisakarida misalnya amilosa, amilopektin, dekstrin, maltodekstrin, polydextrose, dan selulosa (Nedovic et al., 2011). Enkapsulan yang digunakan harus *food grade*, *biodegradable* dan stabil dalam penyimpanan. Mikroenkapsulasi probiotik dapat dilakukan dengan memanfaatkan polimer sebagai enkapsulan untuk melindungi sel dan meningkatkan penyimpanan sel (Capela et al., 2006).

Jenis teknik enkapsulasi dapat dibedakan berdasarkan ukuran partikel yang dihasilkannya. Partikel yang memiliki ukuran 0,2-5000  $\mu\text{m}$  dapat menggunakan teknik mikroenkapsulasi, partikel dengan ukuran  $>5000 \mu\text{m}$  menggunakan teknik makroenkapsulasi, sedangkan teknik nanoenkapsulasi digunakan apabila partikel berukuran  $<0,2 \mu\text{m}$  (Jafari, 2017). Mikroenkapsulasi merupakan salah satu metode enkapsulasi yang dilakukan untuk melindungi sel-sel dalam membran enkapsulasi untuk mengurangi kerusakan sel. Metode pembentukan beads secara umum dikelompokkan menjadi 2 jenis yaitu metode ekstruksi dan metode emulsi. Metode emulsi lebih menguntungkan karena metode ini mampu meningkatkan pertumbuhan probiotik hingga 95% (Krasaekoopt et al., 2003).

#### 2.2.1 Metode Ekstruksi

Metode ekstruksi merupakan metode enkapsulasi probiotik dengan menggunakan alginat hingga terbentuk gel tidak larut (kalsium alginat) yang berbentuk *beads*/manik-manik. Metode ekstruksi merupakan metode sederhana yang digunakan dalam proses enkapsulasi dan tidak membutuhkan biaya yang mahal dalam pembuatannya (Krasaekoopt et al., 2003). Prinsip metode ekstruksi adalah melewati larutan matriks/enkapsulan yang telah dicampur dengan bahan

inti yang akan dienkapsulasi menggunakan *syringe*/suntikan hingga mengeluarkan suatu tetesan yang dijatuhkan ke dalam larutan  $\text{CaCl}_2$  steril akan terbentuk suatu gel tidak larut/ *beads*.



Gambar 2. 4 Enkapsulasi dengan teknik ekstrusi

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

Tabel 2. 5 Jenis-jenis teknik enkapsulasi

| <b>Teknologi</b>              | <b>Proses</b>   | <b>Morfologi</b>    | <b>Ukuran<br/>(micrometer)</b> |
|-------------------------------|---|---------------------|--------------------------------|
| <i>Spray-drying</i>           | 1. Dispersi larutan<br>2. Atomisasi<br>3. Dehidrasi   | Matrix              | 10-400                         |
| <i>Fluid bed coating</i>      | 1. Bubuk fluida aktif<br>2. Penyemprotan lapisan<br>3. Dehidrasi  | Reservoir           | 5-5000                         |
| <i>Spray-chilling</i>         | 1. Dispersi<br>2. Atomisasi<br>3. Pendinginan   | Matrix              | 20-200                         |
| <i>Emulsification</i>         | 1. pengaktifan larutan dan emulsi dalam fasa air atau minyak<br>2. pencampuran air dan minyak   | Matrix              | 0,2-5000                       |
| <i>Coacervation</i>           | 1. preparasi pengemulsi dengan lipofilic aktif pada fasa minyak<br>2. campur pada kondisi turbulent<br>3. induksi tiga fase<br>4. pendinginan<br>5. crosslink | Reservoir           | 10-800                         |
| <i>Liposome Entrapment</i>    | 1. disperse molekul minyak dengan agen aktif<br>2. reduksi ukuran<br>3. perpindahan mekul aktif   | Varioous            | 10-1000                        |
| <i>Inclusion complexation</i> | 1. pencampuran carrier, molekul aktif, dan air<br>2. diinkubasi dan dikeringkan   | Molecular inclusion | 0,001-0,01                     |

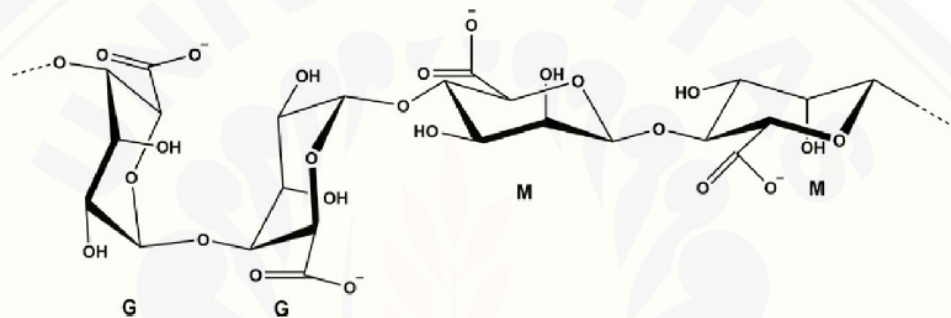
Sumber: (Zuidamm dan Shimmoni, 2009).

### 2.3 Alginat

Alginat merupakan polisakarida linier yang terdiri dari ikatan  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 4)-D asam-mannuronat (M) dan  $\alpha$ -(1 $\rightarrow$ 4)-L asam-guluronat (G). Alginat dapat ditemukan dari dua sumber utama, yaitu:

- Alga yang banyak dapat ditemukan pada ganggang cokelat atau
- Bakteri, seperti *Pseudomonas aeruginosa*.

Alginat memiliki struktur polimer yang kompleks. Terdapat sekuen dari homopolimer blok M (asam manuronat) dengan kombinasi dengan homopolimer blok G (asam guluronat) (Pawar, 2017).



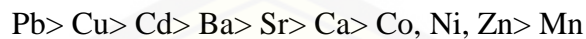
Gambar 2.5 Struktur Alginat

Sumber : Pawar, S. N., 2017)

Alginat sangat berlimpah di alam dan menempati tempat yang luas di area perairan. Sekitar 30.000 ton alginat mampu diperoleh dari hasil panen setiap tahunnya (Draget, 2009 dalam Pawar, 2017). Jumlah alginat yang cukup melimpah memungkinkan untuk mengubah sifat fisikokimia pada alginat, sehingga alginat dapat digunakan sesuai dengan kebutuhan yang diinginkan. Alginat memegang peranan penting dalam dunia biomedis berdasarkan sifatnya yang alami dan kemampuannya dalam membentuk hidrogel yang tidak larut (kalsium alginat). Alginat mampu berikatan secara fisik membentuk hidrogel dengan adanya kation multivalen. Hidrogel sangat cocok untuk digunakan dalam enkapsulasi sel maupun entitas biologis yang membutuhkan perlindungan (Pawar, 2017). Penggunaan alginat sebagai bahan matriks enkapsulasi karena biaya yang digunakan rendah, sederhana dan biokompatibel (Pawar dan Edgar, 2012). Alginat berinteraksi dengan ion multivalen dengan cara yang unik. Residu

manuronat dan guluronat bertindak sebagai khelat pada tulang punggung dengan kation multivalen, sehingga membentuk hidrogel alginat (Sikorski et al., 2007).

Blok G membentuk ikat silang yang kuat, sedangkan blok MG akan membentuk ikatan yang lebih lemah (Donati et al., 2005). *Counter ion* berdasarkan afinitasnya terhadap alginat adalah sebagai berikut:



(Morch et al., 2006).

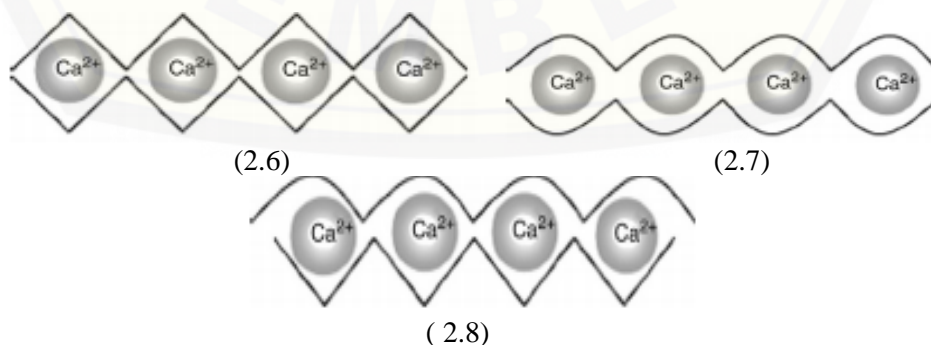
*Counter ion* yang paling sering digunakan selama ini adalah  $\text{Ca}^{2+}$ . Hal tersebut dikarenakan  $\text{Ca}^{2+}$  tidak berbahaya dan relatif mudah digunakan. Metode pembentukan Ca-alginat ada 2 macam:

1. Metode difusi

Metode difusi melibatkan ion  $\text{Ca}^{2+}$  dari luar, dimana ion tersebut akan berdifusi ke dalam saat hidrogel terbentuk. Metode difusi menghasilkan beads hidrogel yang mana konsentrasi ion  $\text{Ca}^{2+}$  tersebar di seluruh gradien *beads*. Metode yang paling umum digunakan untuk membentuk *beads* dengan cara difusi adalah dengan meneteskan larutan Na-alginat pada wadah yang berisi  $\text{CaCl}_2$  (Pawar et al., 2017).

2. Metode Pengaturan Internal

Metode pengaturan internal merupakan metode yang melibatkan pengenalan ion pengikat silang melalui sumber internal, dimana *beads* yang diperoleh menghasilkan konsentrasi ion  $\text{Ca}^{2+}$  yang konsisten di seluruh ketebalan gel. Mekanisme pembentukan gel melibatkan pemicu terkontrol seperti pH untuk memicu ion pengikat silang dalam larutan (Pawar et al., 2017).

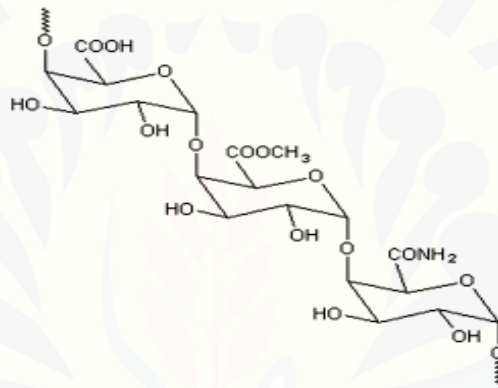


(2.6) Gambar ikatan silang ionik alginat oleh blok GG/GG; (2.7)MG/MG; (2.8)GG/MG

(Sumber: Pawar et al., 2017. Hak Cipta: American Chemical Society, 2005).

## 2.4 Pektin

Pektin merupakan metil ester dari asam poligalakturonik yang mengandung residu ikatan 1,4- $\alpha$ -D-asam galakturonik. Pektin memiliki berat molekul rata-rata 50.000-150.000. Pektin cenderung memiliki viskositas yang lebih rendah dibandingkan polisakarida yang lain. Pektin merupakan polisakarida anionik penting yang dipelajari dalam enkapsulasi probiotik. Pektin telah banyak diterapkan sebagai matriks dalam pengiriman obat spesifik kolon (Gadalla, H.H et al., 2015) dan dapat mengaktifkan enzim pada saluran atas pencernaan seperti amylase dan protease, sehingga ia dapat dicerna oleh pektinase di dalam kolon.



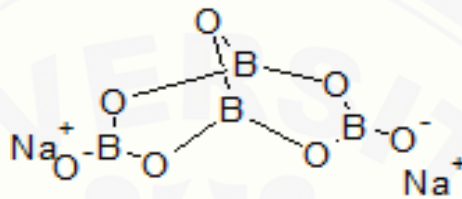
Gambar 2. 9 Struktur Pektin

(Sumber: V.Pillay dan R. Fassihi, 1999).

Pektin dapat disiapkan dengan membentuknya sebagai kelompok hidrofilik maupun hidrofobik. Pembentukan pektin sebagai kelompok hidrofilik dan hidrofobik mempengaruhi kelarutan pektin (kecenderungan membentuk gel) (Ashford M et al., 1993,1994). Sifat fungsional pektin dapat ditentukan oleh banyaknya gugus karboksil yang mampu diesterifikasi atau dinyatakan dengan DE. Pektin dengan metoksi rendah (DE<50%) mampu membentuk gel lebih kokoh dengan adanya ion kalsium. Ion kalsium mengikat silang asam galakturonat pada pektin bermetoksi rendah. Semakin rendah DE pektin, maka semakin sensitif pektin terhadap kalsium (C. Rollin et al., 1993). Pektin telah digunakan oleh beberapa peneliti sebagai *beads* dengan target pengiriman pada kolon (Rubinstein et al., 1993).

## 2.5 Boraks

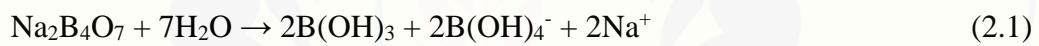
Boraks atau natrium tetraborat ( $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ ) merupakan agen pengikat silang yang telah banyak digunakan untuk polimer yang larut dalam air. Struktur dasar boraks mengandung rantai  $\text{BO}_2(\text{OH})$  segitiga dan  $\text{BO}_3(\text{OH})$  tetrahedral yang terikat dengan rantai dari natrium dan air yang berbentuk oktahedral (Collinet *et al.*, 2007).



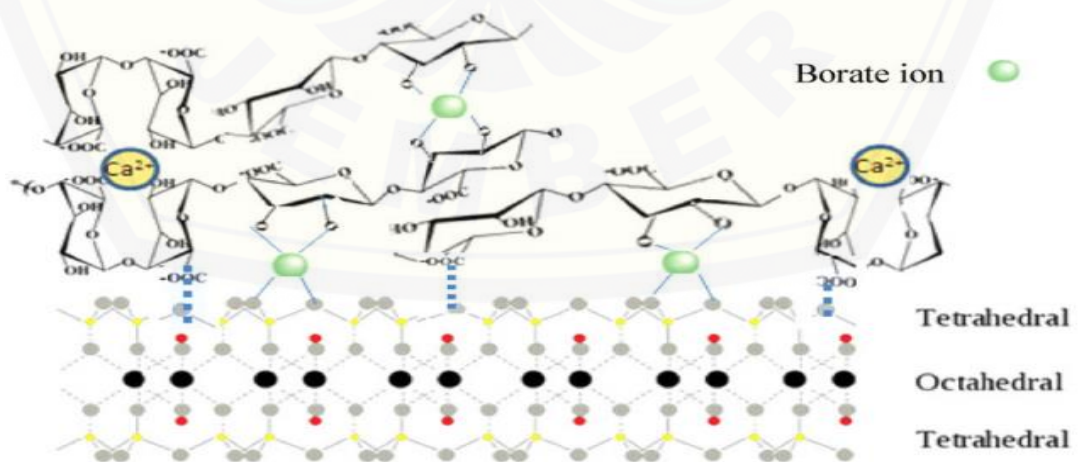
Gambar 2. 10 Struktur dasar Boraks

(Sumber: <http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.8395345.html>).

Boraks pada konsentrasi rendah mampu terdisosiasi menjadi asam borat dan ion borat :



Borat telah terbukti menjadi agen pengikat silang yang efektif untuk polimer yang mengandung gugus hidroksil seperti polivinil alkohol dan guar gum (Colinet *et al.*, 2006). Asnani *et al.*, (2018) menambahkan boraks sebagai pengikat silang pektin target pelepasan di kolon. Hasil yang diperoleh dari penambahan boraks menunjukkan kemampuan membengkak (*swelling*).



Gambar 2. 11 Konfigurasi telur polisakarida (Alginat) dengan adanya boraks

(Sumber: Benli, B., 2012)

### BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN

#### 3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Agustus 2019 sampai November 2019. Penelitian ini bertempat di Laboratorium CDAST (*Centre of Development for Advance Science and Technology*) Universitas Jember.

#### 3.2 Alat dan Bahan

##### 3.2.1 Alat

Peralatan yang digunakan dalam penelitian dikelompokkan menjadi peralatan gelas, peralatan bukan gelas dan instrumen. Peralatan gelas yang digunakan meliputi erlenmeyer, gelas beaker, tabung reaksi, gelas ukur, labu ukur, pipet mohr, pipet tetes, pengaduk gelas, corong gelas, dan cawan petri. Peralatan non gelas yang digunakan adalah *ball* pipet, kawat ose, pipet mikro dan tip, eppendorf, bunsen, anak *stirrer*, suntikan, dan botol semprot. Instrumen yang digunakan adalah *autoclave* (Tomy ES-315), *sentrifuge* (HITACHI CF15RXII), *hot plate* (Stuart UC-152) dan *stirrer magnetic*, vortex (vortex genie 2), oven (Froilabo), pH-meter (Navih F-15), Spektrofotometer UV-VIS U-2900, lemari asam (JAVVA FH180), *laminar air flow* (LAF), *shaker* inkubator, lemari pendingin, *watterbath*, *dry block*, dan kamera digital.

##### 3.2.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian digolongkan menjadi bahan utama, media, bahan kemikalia, dan bahan pendukung. Bahan utama yang digunakan adalah xilooligosakarida, pektin, alginat, boraks dan probiotik *Lactobacillus acidophilus*. Media yang digunakan adalah MRSB (*deMan Ragosa and Sharpe Broth*) dan *bacto* agar (Oxoid).

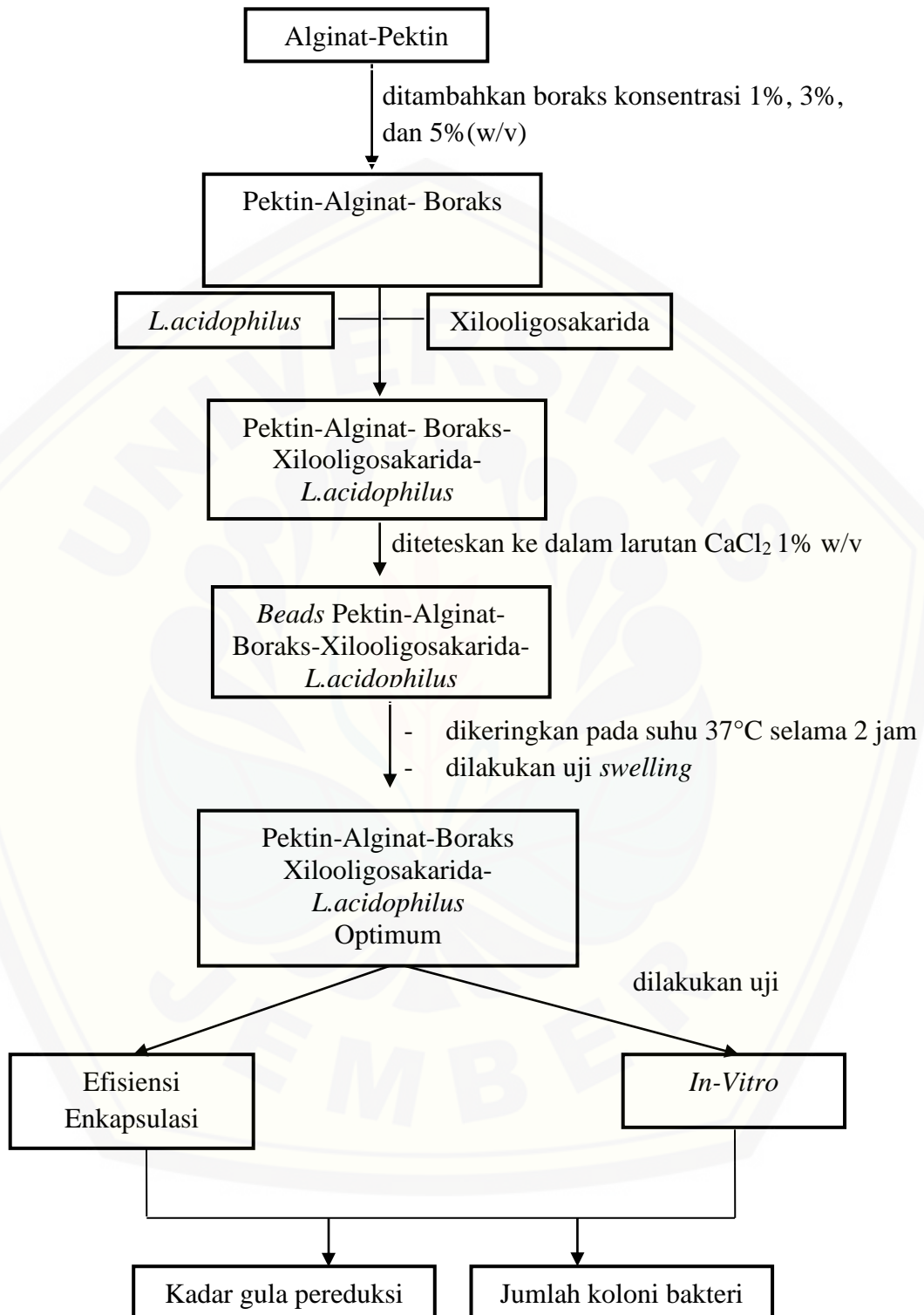
Bahan kemikalia yang digunakan adalah Natrium Hidroksida (Merck, Mr: 39,99 g/mol), etanol 70%, xilosa (Merck, Mr: 150,13 g/mol, HCl 37%, CaCl<sub>2</sub> 1%(w/v) (merck), buffer fosfat pH 5,6 dan pH 7,4, Reagen Miller (DNS), NaCl fisiologis 0,90%, Pepton *Water* 0,01 %, Natrium Sitrata 0,1 M. Bahan pendukung



berupa akuades, akuabides, spiritus, alumunium foil, tisu, kasa, kapas, kertas saring, label.



## 3.3 Diagram Alir



### 3.4 Prosedur Penelitian

#### 3.4.1. Pembuatan alginat-pektin 2:1 (w/v)

Pektin dan alginat yang telah disiapkan dengan variasi perbandingan 1:2 (w/v) dilarutkan dengan akuades hingga 100 ml, kemudian diaduk dengan *magnetic stirrer* hingga homogen pada suhu kamar.

#### 3.4.2 Pembuatan *beads* alginat-pektin-boraks konsentrasi 1%, 3%, dan 5% (w/v)- xilooligosakarida dan *Lactobacillus acidophilus*

Alginat dan pektin perbandingan 2:1 ditambahkan dengan boraks 1%; 3%; dan 5% (w/v) dan diaduk menggunakan *stirrer* hingga homogen. Campuran kemudian diaduk pada suhu kamar dan didiamkan selama 1 jam. Campuran pektin-alginat-boraks dengan berbagai variasi konsentrasi boraks tersebut ditambahkan xilooligosakarida dan *Lactobacillus acidophilus* dengan perbandingan komposisi pada Tabel 3.1 berikut

Tabel 3. 1 Komposisi pektin-alginat-boraks-xilooligosakarida; *Lactobacillus acidophilus*

| Kode Sampel | Alginat:Pektin (ml) | Boraks (%)w/v | XOS (ml) | <i>Lactobacillus acidophilus</i> (ml) | Volume total (ml) |
|-------------|---------------------|---------------|----------|---------------------------------------|-------------------|
| XPAB1       | 4,50                | 1             | 0,25     | 0,25                                  | 5,00              |
| XPAB3       | 4,50                | 3             | 0,25     | 0,25                                  | 5,00              |
| XPAB5       | 4,50                | 5             | 0,25     | 0,25                                  | 5,00              |

Larutan kemudian diteteskan pada  $\text{CaCl}_2$  1%(w/v) untuk mendapatkan bentuk *beads*. *Beads* tersebut disaring dan dibilas menggunakan NaCl fisiologis. *Beads* kemudian dikeringkan pada suhu 37°C selama 2 jam dan dilakukan uji *swelling* untuk mengetahui konsentrasi penambahan boraks paling optimum.

#### a. Uji *swelling*

Uji *swelling* dilakukan dengan menimbang *beads* kering sebanyak 0,50 gram sebagai berat mula-mula. *Beads* kemudian direndam dalam cairan simulasi saluran pencernaan pada suhu 37°C selama 2 jam pada HCl pH 3,5, 2 jam pada buffer fosfat pH 5,6 dan selama 5 jam pada buffer fosfat pH 7,4. *Beads* yang telah diuji *swelling* pada waktu yang ditentukan kemudian disaring menggunakan

kertas saring. *Beads* yang telah disaring kemudian ditimbang dan ditentukan persen *swelling* nya berdasarkan rumus 3.1 berikut :

$$Swelling (\%) = \frac{beads\ basah - beads\ kering}{beads\ kering} \times 100 \dots \dots \dots (3.1)$$

### 3.4.3 Pembuatan *beads* alginat-pektin-boraks *swelling* optimum-xilooligosakarida dan *Lactobacillus acidophilus*

Alginat dan pektin perbandingan 2:1 ditambahkan dengan boraks *swelling beads* paling optimum dan diaduk menggunakan *stirrer* hingga homogen. Campuran kemudian diaduk pada suhu kamar dan didiamkan selama 1 jam. Campuran yang telah homogen ditambahkan xilooligosakarida dan *Lactobacillus acidophilus* dengan perbandingan komposisi pada Tabel 3.2 berikut

Tabel 3. 2 Komposisi pektin-alginat-boraks-xilooligosakarida; *Lactobacillus acidophilus*

| Kode Sampel | Alginat:Pektin (ml) | Boraks (%)w/v | XOS (ml) | <i>Lactobacillus acidophilus</i> (ml) | Volume total (ml) |
|-------------|---------------------|---------------|----------|---------------------------------------|-------------------|
| XPAB        | 4,5                 | x             | 0,25     | 0,25                                  | 5,0               |

Larutan kemudian diteteskan pada  $\text{CaCl}_2$  1%(w/v) untuk mendapatkan bentuk *beads*. *Beads* tersebut disaring dan dibilas menggunakan NaCl fisiologis. *Beads* kemudian dikeringkan pada suhu  $37^\circ\text{C}$  selama 2 jam dan dilakukan uji efisiensi dan kestabilan *beads* dalam cairan simulasi saluran pencernaan.

#### a. Efisiensi enkapsulasi

Efisiensi enkapsulasi dapat diketahui dengan mengukur kadar gula pereduksi dan jumlah koloni bakteri. Kadar gula pereduksi diukur menggunakan metode Miller dengan spektrofotometer menggunakan panjang gelombang 550 nm. Kadar gula pereduksi yang diukur ialah xilooligosakarida mula-mula dan xilooligosakarida yang lepas pada larutan  $\text{CaCl}_2$  dan cucian *beads*. Perhitungan efisiensi xilooligosakarida yang terenkapsulasi adalah sebagai berikut :

$$Efisiensi (\%E) = \frac{xilooligosakarida\ semula - xilooligosakarida\ lepas}{xilooligosakarida\ semula} \times 100 \dots \dots \dots (3.2)$$

Efisiensi bakteri yang terenkapsulasi dapat diketahui dengan mengukur jumlah koloni bakteri mula-mula dan mengukur bakteri yang yang lepas. Bakteri mula-mula dan larutan simulasi kemudian ditumbuhkan pada media MRSA menggunakan metode ajar tuang dengan seri pengenceran. Koloni bakteri dihitung

setelah didiamkan selama 24 jam pada suhu 37°C. Berikut adalah perhitungan efisiensi bakteri yang terenkapsulasi :

$$\text{Efisiensi (\%E)} = \frac{\text{bakteri semula} - \text{bakteri lepas}}{\text{bakteri semula}} \times 100 \dots \dots \dots (3.3)$$

b. Uji *in vitro*

Pelepasan bahan terenkapsulasi dari enkapsulan dilakukan dengan melakukan studi *release* secara *in vitro*. Studi *release* bahan terenkapsulasi dilakukan dengan mempertimbangkan cairan yang digunakan untuk simulasi. Untuk mensimulasikan cairan di lambung digunakan HCl pH 3,5 selama 2 jam pertama, kemudian untuk menyesuaikan cairan di usus halus digunakan buffer fosfat pH 5,6 untuk 2 jam, berikutnya untuk menyesuaikan pH kolon dilakukan dalam buffer fosfat pH 7,4 selama 5 jam. Pengujian pada masing-masing larutan simulasi dilakukan dengan membuat *beads* dari masing-masing 5 mL larutan campuran xilooligosakarida-*L.acidophilus*-pektin-alginat-boraks untuk tiap cairan simulasi. *Beads* kemudian diuji pada masing-masing cairan simulasi dengan waktu yang telah disesuaikan dengan pencernaan. Selama uji *in vitro* dilakukan pengukuran kadar gula pereduksi tiap 1 jam selama waktu yang ditentukan, dan dihitung jumlah bakteri saat waktu selesai.

c. Analisis kadar xilooligosakarida

Analisis kadar xilooligosakarida pada penelitian ini dilakukan menggunakan metode Miller berdasarkan banyaknya gula pereduksi. Sebanyak 500µL larutan simulasi diambil. Larutan tersebut kemudian disentrifugasi menggunakan sentrifuge pada suhu 4° C dengan kecepatan 10.000 rpm selama 10 menit. Supernatan sebanyak 250 µL diambil lalu diuji gula pereduksinya dengan menambahkan reagen Miller (DNS) sebanyak 750 µL. Campuran dipanaskan pada suhu 100°C selama 15 menit, kemudian didinginkan selama 20 menit pada air es. Campuran dihitung absorbansinya menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 550 nm.

d. Analisis populasi *Lactobacillus acidophilus*

Populasi *L. acidophilus* diamati dengan melakukan pengenceran dengan larutan *pepton water* berseri  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-6}$ ,  $10^{-7}$ , dan  $10^{-8}$ . Sebanyak 1 mL sampel dari *beads* yang telah disuspensikan ditambahkan pada 9 mL larutan *pepton water*, dan dilakukan pengenceran secara bertingkat. Pengenceran dua seri terakhir diambil masing-masing 1 mL lalu dilakukan penumbuhan dengan metode tuang pada MRSA, kemudian diinkubasi pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$  selama 24 jam. Jumlah koloni dihitung dengan menggunakan metode BAM (*Bacteriological Analytical Manual*) (FAO/WHO, 2001). Perhitungan koloni bakteri ditunjukkan pada persamaan 3.4, yaitu:

$$N = \frac{\sum c}{\{(1 \times n_1) + (0,1 \times n_2) \times d\}} \dots \dots \dots (3.4)$$

Keterangan :

N = Jumlah total koloni bakteri

$\sum c$  = jumlah seluruh koloni yang dihitung

$n_1$  = jumlah cawan pada pengenceran pertama

$n_2$  = jumlah cawan pada pengenceran kedua

d = tingkat pengenceran yang diperoleh dari cawan pertama yang dihitung

#### 3.4.4 Pembuatan media, reagen, dan larutan

##### a. Pembuatan media MRSA

Media MRSA dibuat dengan menimbang MRSB sebanyak 5,22 gram dan *bacto agar* 1,5 gram dilarutkan hingga mencapai volume 100 ml. Larutan kemudian disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu  $121^{\circ}\text{C}$  selama 5 menit.

##### b. Pembuatan reagen DNS

Reagen DNS dibuat dengan cara mencampurkan beberapa bahan, yaitu 1 gram NaOH, 0,05 gram Na-Sulfit, 1 gram DNS, 18,2 gram K/Na-Tartat, dan 0,2 gram fenol. Campuran beberapa bahan tersebut kemudian dilarutkan kedalam 60 mL akuades dan di *stirrer* hingga larut. Kemudian ditambahkan akuades hingga 100 mL.

c. Pembuatan HCl pH 3,5

Larutan HCl pH 3.5 dibuat dengan cara mengambil 0.0032 mL HCl dengan konsentrasi 10,1 N kedalam labu ukur 100 mL dan ditambahkan akuades hingga tanda batas. Larutan HCl yang telah diencerkan kemudian disesuaikan pH nya dengan menggunakan alat pH meter.

d. Buffer fosfat pH 5,6

Buffer fosfat pH 5.6 sebanyak 100 mL dibuat dengan mencampurkan  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (dinatrium hidrogen fosfat dihidrat) dengan berat molekul 177.99 gram/mol sebanyak 1.78 gram dengan  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  (Natrium dihidrogen fosfat) dengan berat molekul 119.4 gram/mol sebanyak 1.19 gram. Masing-masing bahan dilarutkan hingga 100 mL di dalam labu ukur dengan akuades. Kedalam beaker, dimasukkan sebanyak 93,5 mL larutan  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  dan 6,5 mL larutan  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  diaduk menggunakan *stirrer* homogen. Sesuaikan pH hingga diperoleh pH 5.6 dengan menggunakan larutan HCl atau NaOH.

e. Buffer fosfat pH 7,4

Buffer fosfat pH 7.4 sebanyak 100 mL dibuat dengan mencampurkan  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (dinatrium hidrogen fosfat dihidrat) dengan berat molekul 177.99 gram/mol sebanyak 1.78 gram dengan  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  (Natrium dihidrogen fosfat) dengan berat molekul 119.4 gram/mol sebanyak 1.19 gram. Masing-masing bahan dilarutkan hingga 100 mL di dalam labu ukur dengan akuades. Kedalam beaker, dimasukkan sebanyak 19 mL larutan  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  dan 81 mL larutan  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  diaduk menggunakan *stirrer* homogen. Sesuaikan pH hingga diperoleh pH 7.4 dengan menggunakan larutan HCl atau NaOH.

f. Etanol 70%

Etanol 70% dibuat dengan cara mengencerkan etanol 95% sebanyak 73.6 mL hingga 100 mL dalam labu ukur dengan akuades.

g. Larutan NaCl fisiologis 0,90%

Larutan NaCl fisiologis merupakan larutan yang digunakan untuk membilas *beads*. NaCl fisiologis dibuat dengan menimbang sebanyak 0,90 gram NaCl kemudian dilarutkan dengan akuades dalam labu ukur 100 mL hingga tanda batas.

Larutan kemudian kemudian disterilisasi dengan menggunakan autoklaf 121°C selama 15 menit.

h. Larutan *pepton water* 0,1 % (w/v)

Larutan *pepton water* merupakan larutan yang digunakan dalam seri pengenceran bakteri untuk menghitung banyak koloni bakteri dalam *beads*. *Pepton water* dibuat dengan menimbang sebanyak 0,1 gram pepton kemudian dilarutkan dengan akuades dalam labu ukur 100 mL hingga tanda batas. Larutan kemudian kemudian disterilisasi dengan menggunakan autoklaf 121°C selama 15 menit.

i. Larutan natrium sitrat 0,1 M

Larutan natrium sitrat 0.1 M dibuat dengan menimbang sebanyak 2,6 gram padatan natrium sitrat kemudian dilarutkan dengan akuades dalam labu ukur 100 mL hingga tanda batas. Larutan natrium sitrat kemudian disterilisasi dengan menggunakan autoklaf 121°C selama 15 menit.

j. Larutan CaCl<sub>2</sub> 1% (w/v)

Larutan CaCl<sub>2</sub> 1% digunakan sebagai kation pembentuk *beads* yang akan berikatan dengan gugus-gugus pada alginat dan pektin. Larutan ini dibuat dengan menimbang 1 gram CaCl<sub>2</sub> kemudian dilarutkan dengan akuades dalam labu ukur 100 mL hingga tanda batas. Larutan kemudian disterilisasi dengan menggunakan autoklaf 121°C selama 15 menit.



## BAB 5. PENUTUP

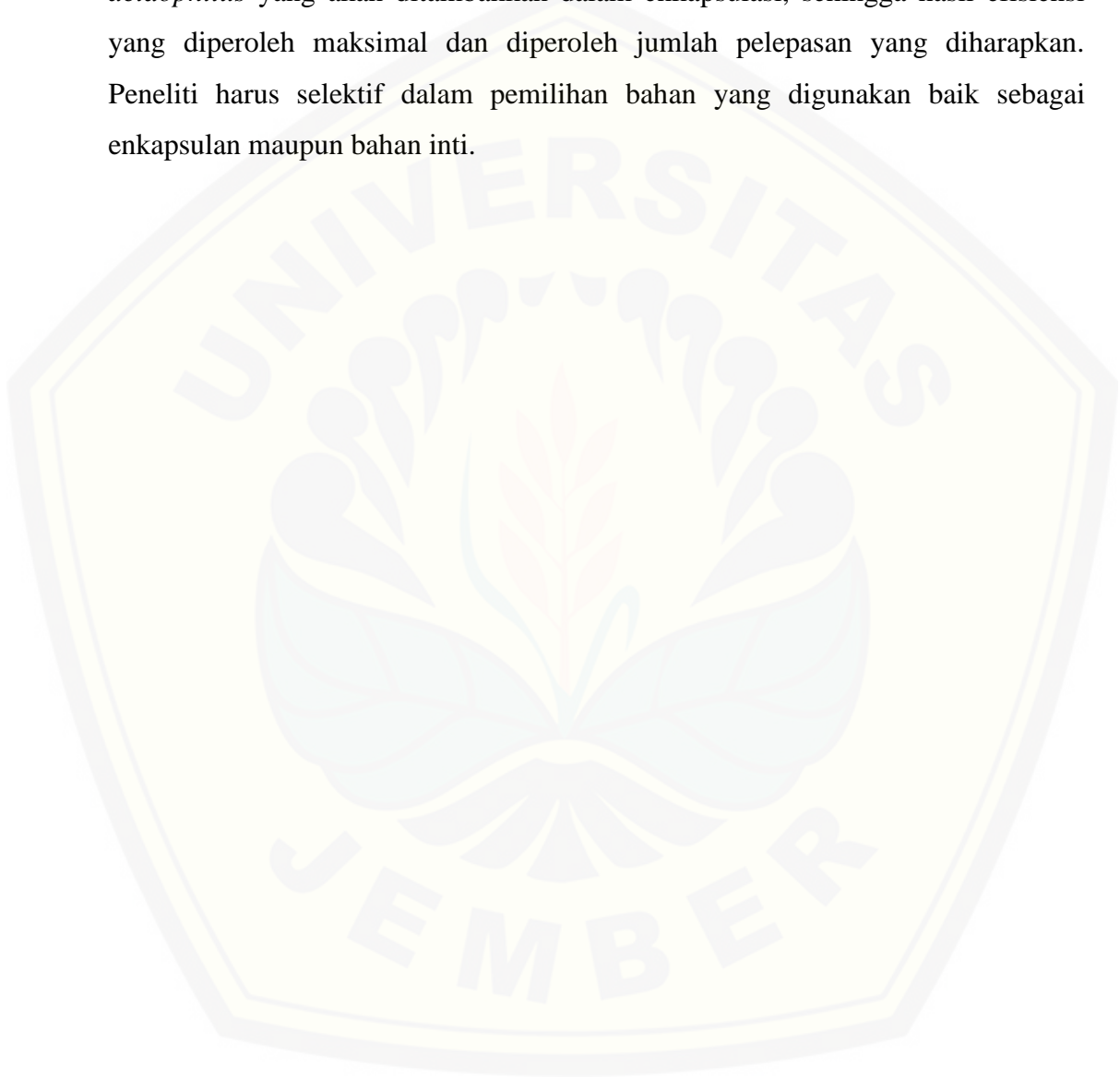
### 5.1 Kesimpulan

Kesimpulan yang diperoleh dari penelitian ini adalah:

1. Konsentrasi penambahan boraks paling optimum dalam meningkatkan kemampuan *swelling beads* diperoleh bahwa penambahan 1%(w/v) pada cairan simulasi kolon berupa buffer fosfat pH 7,4, boraks mampu mencapai persen *sweeling beads* paing tinggi hingga mencapai 756,93%.
2. Efisiensi menunjukkan seberapa efisien enkapsulasi dalam mengkapsul bahan inti dalam sebuah enkapsulasi. Efisiensi enkapsulasi prebiotik xilooligosakarida dan probiotik *Lactobacillus acidophilus* dalam enkapsulan pektin-alginat-boraks diperoleh nilai efisiensi enkapsulasi xilooligosakarida sebesar 69,834% dan efisiensi *Lactobacillus acidophilus* sebesar 68,45%.
3. Uji Kestabilan enkapsulan alginat-pektin-boraks secara *in vitro* menunjukkan kadar gula pereduksi yang semakin menurun seiring bertambahnya waktu dalam larutan simulasi saluran pencernaan. Kadar gula pereduksi pada cairan HCl pH 3,5 dari jam pertama 0,035 mg/mL menjadi 0,025 mg/mL pada jam kedua. Pada cairan buffer fosfat pH 5.6 yang merupakan cairan simulasi usus halus menunjukkan terjadinya penurunan kadar gula pereduksi dari jam pertama sebesar 0,032 mg/mL menjadi 0,027 mg/mL pada jam kedua. Pada cairan buffer fosfat pH 7.4 penurunan, yaitu sebesar 0,030 mg/mL pada jam pertama dan menjadi 0,019 mg/mL pada jam kedua. Pengujian ketahanan *beads* terhadap jumlah bakteri dalam cairan simulasi saluran lambung HCl pH 3,5 diperoleh jumlah koloni sebesar 6,16 log CFU/mL ketahanan *beads* dalam cairan simulasi saluran pencernaan usus halus buffer fosfat pH 5,6 dengan diperoleh jumlah koloni sebesar 6,19 log CFU/mL. Pengujian ketahanan *beads* dalam cairan simulasi saluran pencernaan kolon menggunakan buffer fosfat pH 7,4 diperoleh jumlah koloni sebesar 7,43 log CFU/mL.

## 5.2 Saran

Saran yang diberikan untuk penelitian selanjutnya adalah mempertimbangkan kembali jumlah xilooligosakarida dan *Lactobacillus acidophilus* dengan melakukan optimasi xilooligosakarida dan *Lactobacillus acidophilus* yang akan ditambahkan dalam enkapsulasi, sehingga hasil efisiensi yang diperoleh maksimal dan diperoleh jumlah pelepasan yang diharapkan. Peneliti harus selektif dalam pemilihan bahan yang digunakan baik sebagai enkapsulan maupun bahan inti.



**DAFTAR PUSTAKA**

- Aachary, A. A., dan Prapulla, S. G. (2010). Xylooligosaccharides (XOS) as an Emerging Prebiotic: Microbial Synthesis, Utilization, Structural Characterization, Bioactive Properties, and Applications. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 10(1), 2–16.
- Aanirkunnas, Johannes. 2006. *Metabolic engineering of lactic acid bacteria and characterization of novel enzymes for the production of industrially important compounds*. Finland : Edita Prima Oy.
- Adrianto, A., Ari., M. Rahayuningsih, S. Yuliani. 2011. *Encapsulation of Lactobacillus casei Using Extrusion Technique As Starter Culture for Production of Dadih from Cow Milk*. <http://repository.ipb.ac.id/handle/123456789/51162> (26 Desember 2019).
- Antarini AAN. 2011. Sinbiotik antara prebiotik dan probiotik. *J Ilmu Gizi*. 2(2): 148-155.
- Ananta E, Volkert M, Knorr D. 2005. Cellular injuries and storage stability of spray-dried *Lactobacillus rhamnosus* GG. *International Dairy J*. 15:399–409.
- Asnani, G. P., Bahekar, J., dan Kokare, C. R. (2018). Development of novel pH-responsive dual crosslinked hydrogel beads based on Portulaca oleracea polysaccharide-alginate-borax for colon specific delivery of 5-fluorouracil. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*.
- Awasthi, R., Kulkarni, G. T., Ramana, M. V., de Jesus Andreoli Pinto, T., Kikuchi, I. S., Molim Ghisleni, D. D., ... Dua, K. (2017). Dual crosslinked pectin–alginate network as sustained release hydrophilic matrix for repaglinide. *International Journal of Biological Macromolecules*, 97, 721–732.
- Axelsson, L. (2004). *Lactic Acid Bacteria: Classification and Physiology*. In: Salminen, S., Wright, A.V. and Ouwehand, A., Eds., *Lactic Acid Bacteria: Microbiological and Functional Aspects, 3rd Edition*, Marcel Dekker, New York, 1-67.

- [BAM] Bacteriological Analytical Manual. 2001. *Chapter 3: Aerobic plate count. U.S. food and drug administration.*  
[www.fda.gov/food/ScienceResearch/LaboratoryMethods/BacteriologicalAnalyticalManualBAM/ucm063346.html](http://www.fda.gov/food/ScienceResearch/LaboratoryMethods/BacteriologicalAnalyticalManualBAM/ucm063346.html). [Mei 2019]
- Benli, B. (2012). Effect of borax addition on the structural modification of bentonite in biodegradable alginate-based biocomposites. *Journal of Applied Polymer Science*.
- Capela, P., Hay, T. K. C., & Shah, N. P. (2006). Effect of cryoprotectants, prebiotics and microencapsulation on survival of probiotic organisms in yoghurt and freeze-dried yoghurt. *Food Research International*, 39(2), 203–211.
- Chandramouli, V., K. Kailasapathy, P. Peiris and M. Jones. 2004. An Improved Method of Microencapsulation and Its Evaluation to Protect *Lactobacillus spp.* In Simulated Gastric Condition. *J. of Microbiol Methods* 56:27–35.
- Chávarri, M., Marañón, I., Ares, R., Ibáñez, F. C., Marzo, F., & Villarán, M. del C. (2010). Microencapsulation of a probiotic and prebiotic in alginate-chitosan capsules improves survival in simulated gastro-intestinal conditions. *International Journal of Food Microbiology*, 142(1-2), 185–189.
- Colinet, I., Picton, L., Muller, G., dan Le Cerf, D. (2007). pH-dependent stability of scleroglucan borate gels. *Carbohydrate Polymers*, 69(1), 65–71.
- Collins, M. D., dan Gibson, G. R. (1999). Probiotics, prebiotics, and synbiotics: approaches for modulating the microbial ecology of the gut. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 69(5), 1052s–1057s
- de Vos, P., Faas, M. M., Spasojevic, M., dan Sikkema, J. (2010). Encapsulation for preservation of functionality and targeted delivery of bioactive food components. *International Dairy Journal*, 20, 292-302.
- Donati, I., Draget, K. I., Borgogna, M., dan Paoletti, S. (2005). Tailor-Made Alginate Bearing Galactose Moieties on Mannuronic Residues: Selective Modification Achieved by a Chemoenzymatic Strategy.

*Biomacromolecules*, 6(1), 88–98.

Fathi, M., Varshosaz, J., Mohebbi, M., dan Shahidi, F. (2012). Hesperetin-Loaded Solid Lipid Nanoparticles and Nanostructure Lipid Carriers for Food Fortification: Preparation, Characterization, and Modeling. *Food and Bioprocess Technology*, 6(6), 1464–1475.

FAO/WHO Expert Consultation Group. 2001. *Health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria*. Argentina: FAO/WHO.

FAO/WHO. Food and Agriculture/World Health Organization of the United Nations. 2002. Evaluation of Health and Nutritional Properties of Probiotics in Food including Powder Milk with Live Lactic Acid Bacteria. Córdoba.

FAO, 2007. FAO Technical Meeting on Prebiotics. Food Quality and Standards Service. *Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, Italy*.

Florenza, Silvy . 2014. Pengaruh penambahan isomalt dan lama penyimpanan terhadap ketahanan *Lactobacillus acidophilus* FNCC 0051 terimobil dalam gel alginat pada asam lambung dan garam empedu secara in vitro. Undergraduate thesis, Widya Mandala Catholic University: Surabaya.

Gadalla, H. H., Soliman, G. M., Mohammed, F. A., dan El-Sayed, A. M. (2015). Development and in vitro/in vivo evaluation of Zn-pectinate microparticles reinforced with chitosan for the colonic delivery of progesterone. *Drug Delivery*, 1–14.

García-Ceja, A., Mani-López, E., Palou, E., dan López-Malo, A. (2015). Viability during refrigerated storage in selected food products and during simulated gastrointestinal conditions of individual and combined lactobacilli encapsulated in alginate or alginate-chitosan. *LWT - Food Science and Technology*, 63(1), 482-489

Gibson, G.R., Roberfroid, M.B., 1995. Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. *J. Nutr.* 125, 1401–1412.

Gibson, G. R., Probert, H. M., Loo, J. V., Rastall, R. A., and Roberfroid, M. B. (2004). Dietary modulation of the human colonic microbiota updating the concept of prebiotics. *Nutrition Research Reviews*, 17(02), 259.

Gibson, G.R., Scott, K.P., Rastall, R.A., et al., 2010. Dietary prebiotics: current status and new definition. *Food Sci.Technol. Bull.: Funct. Foods* 7, 119.

Grootaert, C., Delcour, J. A., Courtin, C. M., Broekaert, W. F., Verstraete, W., dan Van de Wiele, T. (2007). Microbial metabolism and prebiotic potency of arabinoxylan oligosaccharides in the human intestine. *Trends in Food Science dan Technology*, 18(2), 64–71.

Guarner, F., dan Malagelada, J. (2003). Gut flora in health and disease. *The Lancet*, 360,512–519.

Hafidah, A. H., Sulistyarningsih, E., Handayani, W., Ratnadewi, A.A.I. (2018). prebiotic effects of cassava dregs xylooligosaccharide from Hydrolysis of endo-b-1,4-D-xylanase on balb/c mice colon. *Journal of Tropical Agricultural Science, UPM Malaysia*. 41 (3): 1021 - 1031.

Hidayat, N., M.C. Padaga, dan S. Suhartini. 2006. *Mikrobiologi Industri*. Yogyakarta : Penerbit Andi Yogyakarta.

<https://www.sigmaaldrich.com/technical-documents/articles/microbiology-focus/lactobacilli.html>

Jafari, S. M. (2017). An overview of nanoencapsulation techniques and their classification. *Nanoencapsulation Technologies for the Food and Nutraceutical Industries*, 1–34.

Jones, F. (1999). “Lactobacillus acidophilus”. Department of Bacteriology. University of Wisconsin-Madison.

Jyothi, M.V., Subas C.H., Ravindra, J.R., Venkatesh, P. (2012) Synthesis and Antimicrobial activity Evaluation of some Novel Pyrazolines. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*. 4(5):2626-2630

- Kailasapathy, K., 2002. Microencapsulation of probiotic bacteria: technology and potential applications. *Curr. Issues Intest. Microbiol.* 3, 39–48.
- Krasaekoopt, W., dan Watcharapoka, S. (2014). Effect of addition of inulin and galactooligosaccharide on the survival of microencapsulated probiotics in alginate beads coated with chitosan in simulated digestive system, yogurt and fruit juice. *LWT - Food Science and Technology*, 57(2), 761–766.
- Krasaekoopt, W., Bhandari, B., Deeth, H., 2004. The influence of coating materials on some properties of alginate beads and survivability of microencapsulated probiotic bacteria. *Int. Dairy J.* 14, 737–743.
- Krasaekoopt W, Bhandari B, Deeth H. 2003. Evaluation of Encapsulation techniques of probiotics for yoghurt. *International Dairy J.* 13:3–13.
- Kumar G.P., Pushpa A. and Prabha H., A review on xylooligosaccharides. (2012). *IRJP*, 3(8), 71-4
- Kono, T., Fructooligosaccharides, in Oligosaccharides: Production, Properties, and Applications, Nakakuki, T., Ed., *Japanese Technology Reviews*, Vol. 3(2),1993, chap.3, 50–78.
- Kontula, P., von Wright, A., dan Mattila-Sandholm, T. (1998). Oat bran  $\beta$ -gluco- and xylo-oligosaccharides as fermentative substrates for lactic acid bacteria. *International Journal of Food Microbiology*, 45(2), 163–169.
- Lim, Y.-M., Yao, S., Gras, S. L., McSweeney, C., Lockett, T., Augustin, M. A., dan Gooley, P. R. (2014). Hydrodynamic radii of solubilized high amylose native and modified starches by pulsed field gradient NMR diffusion measurements. *Food Hydrocolloids*, 40, 16–21.
- Iyer, C., Kailasapathy, K., 2005. Effect of co-encapsulation of probiotics with prebiotics on increasing the viability of encapsulated bacteria in simulated gastrointestinal conditions and in yoghurt. *J. Food Science* 70 (1), M18–M23.
- Macfarlane, S., Macfarlane, G. T., dan Cummings, J. H. (2006). Review article: prebiotics in the gastrointestinal tract. *Alimentary Pharmacology and*

*Therapeutics*, 24(5), 701–714.

Manichanh, C., Borrueal, N., Casellas, F., dan Guarner, F. (2012). *The gut microbiota in IBD. Nature Reviews Gastroenterology dan Hepatology*, 9(10), 599–608.

Mørch, Y. A., Donati, I., dan Strand, B. L. (2006). Effect of Ca<sup>2+</sup>, Ba<sup>2+</sup>, and Sr<sup>2+</sup> on Alginate Microbeads. *Biomacromolecules*, 7(5), 1471–1480.

Monedero, V., Pérez-Martínez, G., dan Yebra, M. J. (2010). Perspectives of engineering lactic acid bacteria for biotechnological polyol production. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 86(4), 1003–1015.

Moura, P., Cabanas, S., Lourenço, P., Gírio, F., Loureiro-Dias, M. C., dan Esteves, M. P. (2008). In vitro fermentation of selected xylo-oligosaccharides by piglet intestinal microbiota. *LWT - Food Science and Technology*, 41(10), 1952–1961.

Muller, Volker. 2001. *Bacterial Fermentation*. Germany: Ludwig Maximilians Universität Munchen.

Murphy, O. (2001). Non-polyol low-digestible carbohydrates: food applications and functional benefits. *British Journal of Nutrition*, 85, 47–53.

Nakakuki, T. Present Status and Future of Functional Oligosaccharide development in Japan. (2002). *Pure Appl.Chem.*, Vol 74, No. 7, pp. 1245-1251.

Nedovic, Viktor, Ana Kalusevis, Verica Manojlovic, Steva Levic, Branko Bugarski. 2011. "An Overview of Encapsulation Technologies for Food Applications". *Procedia Food Science* 1:1806-1815

Nussinovitch, A. (1997). *Hydrocolloid Applications*.

Okazaki, M., Fujikawa, S. and Matsumoo, N. 1990. Effect of xylooligosaccharide on growth of bifidobacteria. *J. of the Japanese Society of Nutrition and Food Science*. 43: 395-401.



- P.J.Subrahmanyam (2012) Design and development of guar gum and borax crosslinked guar gum matrix tablets of theophylline for colon specific drug. *J. of Chemical and pharmaceutical research*.4(2):1052-1060.
- Pawar, S. N. (2017). Chemical Modification of Alginate. *Seaweed Polysaccharides*, 111–155.
- Pawar, S. N., dan Edgar, K. J. (2012). Alginate derivatization: A review of chemistry, properties and applications. *Biomaterials*, 33(11), 3279–3305.
- Prescott, L.M. 2002. Prescott-Harley-Klein: *Microbiology 5th Edition*. USA: The McGrawth-Hill Companies.
- Rahma, M. T. 2016. *Karakterisasi Fermentasi Xilooligosakarida Ampas Singkong Hasil Hidrolisis Endo-B-1,4-D-Xilanase oleh Lactobacillus Acidophilus*. Jember: Universitas Jember.
- Ratnadewi, A. A. I., Santoso, A. B., Sulistyarningsih, E., & Handayani, W. (2016). Application of Cassava Peel and Waste as Raw Materials for Xylooligosaccharide Production Using Endoxylanase from *Bacillus subtilis* of Soil Termite Abdomen. *Procedia Chemistry*, 18, 31–38.
- Rosenfeldt, V., Michaelsen, K. F., Jakobsen, M., Larsen, C. N., Møller, P. L., Tvede, M., ... Pærregaard, A. (2002). Effect of probiotic *Lactobacillus* strains on acute diarrhea in a cohort of nonhospitalized children attending day-care centers. *The Pediatric Infectious Disease Journal*, 21(5), 417–419
- Rubinstein, A., Radai, R., Ezra, M., Pathak, S., & Rokem, J. S. (1993). *Pharmaceutical Research*, 10(2), 258–263.
- Samanta, Jayapal, Jayaram, Yor, dan Kolte. 2015. “Xylooligosaccharides as prebiotic from agricultural by-product : Production and application”. *Bioactive Carbohydrat and Dietary fibre*. 5 : 62-71.
- Shibayama, M., Sato, M., Rimura, Y., Fujiwara, H., dan Nomura, S. (1988). Boron-11 NMR study on the reaction of poly(vinyl alcohol) with boric acid. *Polymer*, 29(2), 336–340.

- Shukla, S., Verma, K., Jain, D., & Verma, S. (2011). Pectin-based colon-specific drug delivery. *Chronicles of Young Scientists*, 2(2), 83.
- Sikorski, P., Mo, F., Skjåk-Bræk, G., dan Stokke, B. T. (2007). Evidence for Egg-Box-Compatible Interactions in Calcium–Alginate Gels from Fiber X-ray Diffraction. *Biomacromolecules*, 8(7), 2098–2103.
- Swennen, K., Courtin, C. M., Lindemans, G. C., dan Delcour, J. A. (2006). Large-scale production and characterisation of wheat bran arabinoxyloligosaccharides. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 86(11), 1722–1731.
- V. Pillay and R. Fassihi, "In vitro release modulation from crosslinked pellets for site-specific drug delivery to the gastrointestinal tract - II. Physicochemical characterization of calcium-alginate, calcium-pectinate and calcium-alginate-pectinate pellets", *J CONTR REL*, 59(2), 1999, pp. 243-256
- Wenzel, G. E., Fontana, J. D., dan Correa, J. B. C. (1990). The viscous mucilage from the weed *Portulaca oleracea*, L. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 24-25(1), 341–353
- Winarti, Sri. 2010. Makanan Fungsional. Surabaya: Graha Ilmu.
- Wilhelm H. Holzapfel\*, Ulrich Schillinger. 2002. Introduction to pre- and probiotics. *Food Research International*, 35(2-3), 109–116.
- Yeo, S.-K., dan Liong, M.-T. (2010). Angiotensin I-converting enzyme inhibitory activity and bioconversion of isoflavones by probiotics in soymilk supplemented with prebiotics. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 61(2), 161–181.
- Zuidam, N.J. dan Shimoni. 2009. Overview of Microencapsulates for Use in Food Products or Processes and Methods to Make Them. In: Zuidam, N.J., Nedovic, V.A., (Eds.). *Encapsulation Technologies for Food Active Ingredients and Food Processing*, Springer: Dordrecht, The Netherlands, p. 3-31.

## LAMPIRAN

### 3.1 Pembuatan Media, Reagen dan Larutan

#### 3.1.1 Pembuatan Media

##### a. Media Cair MRSB

Pembuatan Media MRSB dilakukan dengan mencampurkan 5,22 gram serbuk MRSB yang tersusun atas campuran dari beberapa bahan, antara lain :

- 1,000 g tripton
- 0,800 g *meat extract*;
- 0,400 g *yeast extract*;
- 0,200 g  $K_2HPO_4$ ;
- 0,100 g Tween 80;
- 0,200 g natrium asetat;
- 0,004 g mangan sulfat;
- 0,200 g  $(NH_4)CO_3$
- 0,020 g magnesium sulfat

Dilartutkan hingga 100 mL dengan akuades dan diaduk hingga homogen. Larutan yang telah homogen kemudian disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121°C.

##### b. Media Padat MRSA

Pembuatan media padat MRSA dibuat dengan mencampurkan 1,5 gram *bacto agar* dan 5,22 gram MRSB yang tersusun atas campuran beberapa bahan, antara lain :

- 1,000 g tripton
- 0,800 g *meat extract*;
- 0,400 g *yeast extract*;
- 0,200 g  $K_2HPO_4$ ;
- 0,100 g Tween 80;
- 0,200 g natrium asetat;
- 0,004 g mangan sulfat;
- 0,200 g  $(NH_4)CO_3$

- 0,020 g magnesium sulfat

Dilarutkan hingga 100 mL dengan akuades dan diaduk hingga homogen. Larutan yang telah homogen kemudian disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121°C.

### 3.1 2 Perhitungan pembuatan larutan

a. HCl pH 3,5

$$\text{pH} = -\log[\text{H}^+]$$

$$[\text{H}^+] = 10^{(-3.5)}$$

$$= 0.00032 \text{ N}$$

$$N_1.V_1 = N_2.V_2$$

$$0.00032 \text{ N} \cdot 100 = 10,1 \text{ N} \cdot V_2$$

$$V_2 = 0.0032 \text{ mL}$$

b. Etanol 70%

$$M_1.V_1 = M_2.V_2$$

$$95\% \cdot V_1 = 70\% \cdot 100 \text{ mL}$$

$$V_1 = 73,6 \text{ mL}$$

c. CaCl<sub>2</sub> 1% sebanyak 100 mL

$$\% = \frac{\text{massa (gram)}}{V \text{ larutan (mL)}}$$

$$\frac{1 \text{ g}}{100 \text{ mL}} = \frac{x}{100 \text{ mL}}$$

$$x = \text{massa} = 1 \text{ gram}$$

1 gram CaCl<sub>2</sub> dilarutkan hingga volume 100 mL

d. Pepton Water 0,1% sebanyak 100 mL

$$\% = \frac{\text{massa (gram)}}{V \text{ larutan (mL)}}$$

$$\frac{0,1 \text{ g}}{100 \text{ mL}} = \frac{x}{100 \text{ mL}}$$

$$x = \text{massa} = 0,1 \text{ gram}$$

0,1 gram *pepton water* dilarutkan hingga volume 100 mL

e. Natrium sitrat 0,1M

$\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$  0,1 M sebanyak 100 mL

$$0,1 \text{ M} = \frac{n}{0,1 \text{ L}}$$

$$0,01 \text{ M} = \frac{m}{mr}$$

$$0,01 \text{ M} = \frac{m}{258,06}$$

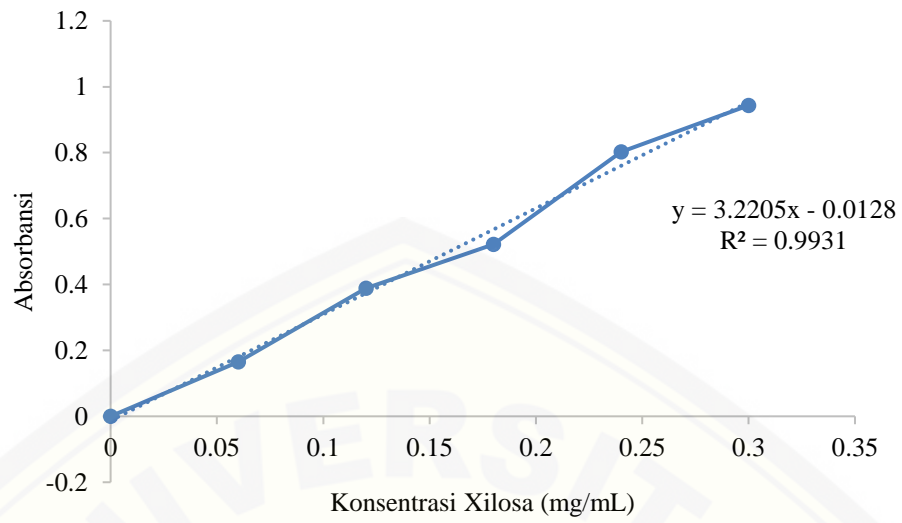
$$m = 2,6 \text{ gram}$$

2,6 gram dilarutkan hingga volume 100 mL

#### 4. 1 Kurva Standar Penelitian

##### 4.1 1 Kurva Standar Xilosa

| [Xilosa]<br>(mg/ml) | Absorbansi |       |       | Rata-rata | Standar<br>Deviasi |
|---------------------|------------|-------|-------|-----------|--------------------|
|                     | 1          | 2     | 3     |           |                    |
| 0                   | 0          | 0     | 0     | 0         | 0                  |
| 0.06                | 0.173      | 0.166 | 0.156 | 0.165     | 0.009              |
| 0.12                | 0.365      | 0.425 | 0.377 | 0.389     | 0.032              |
| 0.18                | 0.524      | 0.551 | 0.490 | 0.522     | 0.031              |
| 0.24                | 0.839      | 0.800 | 0.768 | 0.802     | 0.036              |
| 0.30                | 0.967      | 0.921 | 0.943 | 0.944     | 0.023              |



Kurva standar xilosa

4.2 Optimasi *Swelling* Boraks konsentrasi 1; 3; dan 5% (w/v)

4.2.1 Data Optimasi *Swelling beads*

$$Swelling (\%) = \frac{beads\ basah - beads\ kering}{beads\ kering} \times 100$$

| [Boraks] | Larutan              | Berat awal/kering (gram) |           |           | Berat akhir/basah (gram) |           |           | <i>Swelling</i> (%) |           |           | Rata-rata ± SD |
|----------|----------------------|--------------------------|-----------|-----------|--------------------------|-----------|-----------|---------------------|-----------|-----------|----------------|
|          |                      | Ulangan 1                | Ulangan 2 | Ulangan 3 | Ulangan 1                | Ulangan 2 | Ulangan 3 | Ulangan 1           | Ulangan 2 | Ulangan 3 |                |
| 1 %      | HCl pH 3,5           | 0,51                     | 0,51      | 0,50      | 1,23                     | 1,20      | 1,15      | 141,70              | 135,76    | 129,54    | 135,33±5,59    |
|          | Buffer Fosfat pH 5,6 | 0,51                     | 0,51      | 0,51      | 1,66                     | 1,35      | 1,67      | 232,00              | 167,33    | 228,09    | 209,14±36,26   |
|          | Buffer Fosfat pH 7,4 | 0,51                     | 0,50      | 0,50      | 4,57                     | 4,83      | 3,57      | 796,08              | 862,15    | 612,57    | 756,93±129,1   |
| 3%       | HCl pH 3,5           | 0,50                     | 0,50      | 0,51      | 0,82                     | 0,79      | 0,80      | 63,93               | 57,62     | 58,10     | 59,89 ±3,51    |
|          | Buffer Fosfat pH 5,6 | 0,50                     | 0,50      | 0,50      | 1,19                     | 1,19      | 1,17      | 136,96              | 137,38    | 133,81    | 136,05±1,95    |
|          | Buffer Fosfat pH 7,4 | 0,50                     | 0,50      | 0,51      | 2,22                     | 2,38      | 2,58      | 341,09              | 375,52    | 410,89    | 375,83±34,90   |
| 5%       | HCl pH 3,5           | 0,51                     | 0,50      | 0,50      | 0,67                     | 0,67      | 0,67      | 31,35               | 33,97     | 33,36     | 32,89 ±1,37    |
|          | Buffer Fosfat pH 5,6 | 0,50                     | 0,50      | 0,50      | 0,98                     | 0,96      | 0,97      | 95,06               | 91,88     | 93,11     | 93,35 ±1,60    |
|          | Buffer Fosfat pH 7,4 | 0,50                     | 0,50      | 0,50      | 2,08                     | 2,06      | 2,06      | 315,00              | 311,26    | 310,11    | 312,13 ±2,56   |

4.2.2 Perhitungan persen *swelling beads*

## a. Konsentrasi 1% boraks

## 1) HCl pH 3,5

Ulangan 1

$$\begin{aligned} \text{Swelling (\%)} &= \frac{1,23 - 0,51}{0,51} \times 100 \\ &= \frac{0,72}{0,51} \times 100 \\ &= 140,70\% \end{aligned}$$

Ulangan 2

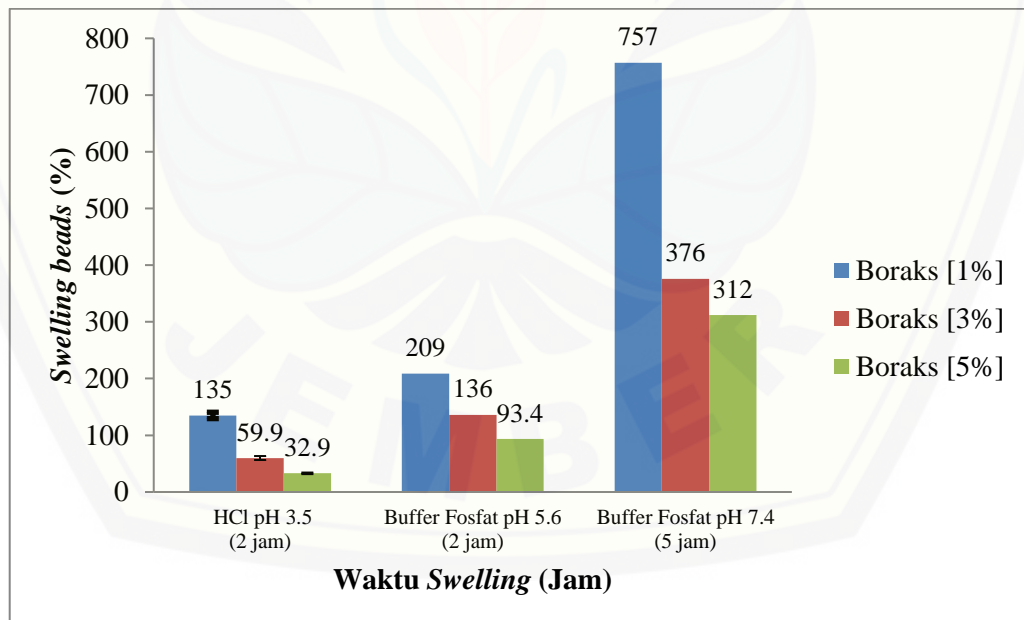
$$\begin{aligned} \text{Swelling (\%)} &= \frac{1,20 - 0,51}{0,51} \times 100 \\ &= \frac{0,70}{0,51} \times 100 \\ &= 135,76\% \end{aligned}$$

Ulangan 3

$$\begin{aligned} \text{Swelling (\%)} &= \frac{1,15 - 0,50}{0,50} \times 100 \\ &= \frac{0,65}{0,50} \times 100 \\ &= 129,54\% \end{aligned}$$

Rata – rata

$$\begin{aligned} &= \frac{(140,70 + 135,76 + 129,54)\%}{3} \\ &= \frac{407,00\%}{3} \\ &= 135,33\% \end{aligned}$$

Grafik *Swelling Beads* Variasi Boraks 1%; 3%; dan 5%



## 4.3 Data Hasil Pengamatan

### 4.3.1 Efisiensi Enkapsulasi (%E)

a. Efisiensi Enkapsulasi Bakteri *Lactobacillus acidophilus*

$$\text{Efisiensi (\%E)} = \frac{\text{bakteri semula} - \text{bakteri lepas}}{\text{bakteri semula}} \times 100$$

| Bakteri/<br>Pengulangan | Mula-mula<br>CFU/mL  | Mula-mula<br>(log CFU/ml) | Lepas<br>CFU/mL      | Lepas<br>(log CFU/ml) | Efisiensi<br>(%) | Rata-rata<br>(%) ±SD |
|-------------------------|----------------------|---------------------------|----------------------|-----------------------|------------------|----------------------|
| 1                       | 1.80x10 <sup>9</sup> | 9.26                      | 9.12x10 <sup>2</sup> | 2.96                  | 68.03            | 68.45±0,54           |
| 2                       | 2.02x10 <sup>9</sup> | 9.31                      | 7.58x10 <sup>2</sup> | 2.88                  | 69.07            |                      |
| 3                       | 2.47x10 <sup>9</sup> | 9.39                      | 9.54x10 <sup>2</sup> | 2.98                  | 68.26            |                      |

#### 1) Perhitungan Efisiensi

Ulangan 1

$$\begin{aligned} \text{Efisiensi (\%E)} &= \frac{(9,26 - 2,96) \log \text{CFU/mL}}{9,26 \log \text{CFU/mL}} \times 100 \\ &= \frac{6,30 \log \text{CFU/mL}}{9,26 \log \text{CFU/mL}} \times 100 \\ &= 68,0\% \end{aligned}$$

Ulangan 2

$$\begin{aligned} Efisiensi (\%E) &= \frac{(9,31 - 2,88) \log CFU/mL}{9,31 \log CFU/mL} \times 100 \\ &= \frac{6,43 \log CFU/mL}{9,31 \log CFU/mL} \times 100 \\ &= 69,07\% \end{aligned}$$

Rata-rata

$$\begin{aligned} Rata - rata &= \frac{(68,03 + 68,07 + 68,26)\%}{3} \\ &= \frac{205,30\%}{3} \\ &= 68,45\% \end{aligned}$$

Ulangan 3

$$\begin{aligned} Efisiensi (\%E) &= \frac{(9,39 - 2,98) \log CFU/mL}{9,39 \log CFU/mL} \times 100 \\ &= \frac{6,41 \log CFU/mL}{9,39 \log CFU/mL} \times 100 \\ &= 68,26\% \end{aligned}$$

b. Efisiensi Enkapsulasi Xilooligosakarida

$$Efisiensi (\%E) = \frac{XOS\ semula - XOS\ lepas}{XOS\ semula} \times 100$$

| Xilooligosakarida/<br>Pengulangan | Mula-mula<br>(Abs) | Mula-mula<br>(mg/ml) | Lepas<br>(Abs) | Lepas<br>(mg/ml) | Efisiensi<br>(%) | Rata-rata (%)<br>±SD |
|-----------------------------------|--------------------|----------------------|----------------|------------------|------------------|----------------------|
| 1                                 | 0.307              | 0.993                | 0.104          | 0.364            | 63.343           | 69.834±6,042         |
| 2                                 | 0.289              | 0.937                | 0.075          | 0.273            | 70.864           |                      |
| 3                                 | 0.287              | 0.931                | 0.061          | 0.230            | 75.295           |                      |

1) Perhitungan Efisiensi

Ulangan 1

$$\begin{aligned}
 Efisiensi (\%E) &= \frac{(0,993 - 0,364)mg/mL}{0,993\ mg/mL} \times 100 \\
 &= \frac{0,629\ mg/mL}{0,993\ mg/mL} \times 100 \\
 &= 63,343\%
 \end{aligned}$$

Ulangan 2

$$\begin{aligned} Efisiensi (\%E) &= \frac{(0,937 - 0,277)mg/mL}{0,993 mg/mL} \times 100 \\ &= \frac{0,660 mg/mL}{0,937 mg/mL} \times 100 \\ &= 70,438\% \end{aligned}$$

Ulangan 3

$$\begin{aligned} Efisiensi (\%E) &= \frac{(0,931 - 0,230)mg/mL}{0,931 mg/mL} \times 100 \\ &= \frac{0,701 mg/mL}{0,931 mg/mL} \times 100 \\ &= 75,295\% \end{aligned}$$

Rata-rata

$$\begin{aligned} Rata - rata &= \frac{(63,343 + 70,384 + 75,295)\%}{3} \\ &= \frac{209,076\%}{3} \\ &= 69,692\% \end{aligned}$$

4.3.2 Uji *in vitro*

a. Jumlah Koloni Bakteri

| Larutan                     | Waktu | Pengulangan | $\Sigma C$ | CFU/mL                | Rata-rata<br>CFU/mL   | log CFU/mL | Rata-rata $\pm$<br>SD |
|-----------------------------|-------|-------------|------------|-----------------------|-----------------------|------------|-----------------------|
| Terenkapsulasi<br>mula-mula | -     | 1           | 218        | 1.98x10 <sup>6</sup>  | 2.41x10 <sup>6</sup>  | 6.30       | 6.38 $\pm$ 0.07       |
|                             |       | 2           | 297        | 2.70x10 <sup>6</sup>  |                       | 6.43       |                       |
|                             |       | 3           | 280        | 2.55x10 <sup>6</sup>  |                       | 6.41       |                       |
| HCl pH 3.5                  | 2 jam | 1           | 165        | 1.50x10 <sup>6</sup>  | 1.45 x10 <sup>6</sup> | 6.18       | 6.16 $\pm$ 0.06       |
|                             |       | 2           | 136        | 1.24 x10 <sup>6</sup> |                       | 6.09       |                       |
|                             |       | 3           | 176        | 1.60 x10 <sup>6</sup> |                       | 6.20       |                       |
| Buffer fosfat<br>pH 5.6     | 2 jam | 1           | 184        | 1.67 x10 <sup>6</sup> | 1.55 x10 <sup>6</sup> | 6.22       | 6.19 $\pm$ 0.06       |
|                             |       | 2           | 185        | 1.68 x10 <sup>6</sup> |                       | 6.23       |                       |
|                             |       | 3           | 144        | 1.31 x10 <sup>6</sup> |                       | 6.12       |                       |
| Buffer Fosfat<br>pH 7.4     | 5 jam | 1           | 275        | 2.50 x10 <sup>7</sup> | 2.68 x10 <sup>7</sup> | 7.40       | 7.43 $\pm$ 0.03       |
|                             |       | 2           | 287        | 2.61 x10 <sup>7</sup> |                       | 7.42       |                       |
|                             |       | 3           | 321        | 2.92 x10 <sup>7</sup> |                       | 7.47       |                       |

## 1) Perhitungan Koloni Bakteri

Terenkapsulasi mula-mula

Ulangan 1

$$N\left(\frac{\text{CFU}}{\text{mL}}\right) = \frac{\sum C}{\{(1 \times n_1) + (0,1 \times n_2) \times d\}}$$

$$N\left(\frac{\text{CFU}}{\text{mL}}\right) = \frac{218}{\{(1 \times 1) + (0,1 \times 1)\}} \times 10^{-4}$$

$$N\left(\frac{\text{CFU}}{\text{mL}}\right) = \frac{218}{1,1 \times 10^{-4}}$$

$$N = 1,98 \times 10^6 \frac{\text{CFU}}{\text{mL}}$$

$$N = \log 1,98 \times 10^6 \frac{\text{CFU}}{\text{mL}}$$

$$N = 6,30 \log \frac{\text{CFU}}{\text{mL}}$$

Ulangan 2

$$N\left(\frac{\text{CFU}}{\text{mL}}\right) = \frac{\sum C}{\{(1 \times n_1) + (0,1 \times n_2) \times d\}}$$

$$N\left(\frac{\text{CFU}}{\text{mL}}\right) = \frac{297}{\{(1 \times 1) + (0,1 \times 1)\}} \times 10^{-4}$$

$$N\left(\frac{\text{CFU}}{\text{mL}}\right) = \frac{297}{1,1 \times 10^{-4}}$$

$$N = 2,70 \times 10^6 \frac{\text{CFU}}{\text{mL}}$$

$$N = \log 2,70 \times 10^6 \frac{\text{CFU}}{\text{mL}}$$

$$N = 6,43 \log \frac{\text{CFU}}{\text{mL}}$$

Ulangan 3

$$N\left(\frac{\text{CFU}}{\text{mL}}\right) = \frac{\sum C}{\{(1 \times n_1) + (0,1 \times n_2) \times d\}}$$

$$N\left(\frac{\text{CFU}}{\text{mL}}\right) = \frac{280}{\{(1 \times 1) + (0,1 \times 1)\}} \times 10^{-4}$$

$$N\left(\frac{\text{CFU}}{\text{mL}}\right) = \frac{280}{1,1 \times 10^{-4}}$$

$$N = 2,55 \times 10^6 \frac{\text{CFU}}{\text{mL}}$$

$$N = \log 2,55 \times 10^6 \frac{\text{CFU}}{\text{mL}}$$

$$N = 6,41 \log \frac{\text{CFU}}{\text{mL}}$$

Rata – rata

$$= \frac{(6,30 + 6,43 + 6,41) \log \text{CFU/mL}}{3}$$

$$= 6,38 \log \text{CFU/mL}$$

Buffer Fosfat pH 7,4

Ulangan 1

$$N\left(\frac{\text{CFU}}{\text{mL}}\right) = \frac{\sum C}{\{(1 \times n_1) + (0,1 \times n_2) \times d\}}$$

$$N\left(\frac{\text{CFU}}{\text{mL}}\right) = \frac{275}{\{(1 \times 1) + (0,1 \times 1)\}} \times 10^{-5}$$

$$N\left(\frac{\text{CFU}}{\text{mL}}\right) = \frac{275}{1,1 \times 10^{-5}}$$

$$N = 2,50 \times 10^7 \frac{\text{CFU}}{\text{mL}}$$

$$N = \log 2,50 \times 10^7 \frac{\text{CFU}}{\text{mL}}$$

$$N = 7,40 \log \frac{\text{CFU}}{\text{mL}}$$

Ulangan 2

$$N\left(\frac{\text{CFU}}{\text{mL}}\right) = \frac{\sum C}{\{(1 \times n_1) + (0,1 \times n_2) \times d\}}$$

$$N\left(\frac{\text{CFU}}{\text{mL}}\right) = \frac{287}{\{(1 \times 1) + (0,1 \times 1)\}} \times 10^{-5}$$

$$N\left(\frac{\text{CFU}}{\text{mL}}\right) = \frac{2,87}{1,1 \times 10^{-5}}$$

$$N = 2,61 \times 10^7 \frac{\text{CFU}}{\text{mL}}$$

$$N = \log 2,61 \times 10^7 \frac{\text{CFU}}{\text{mL}}$$

$$N = 7,42 \log \frac{\text{CFU}}{\text{mL}}$$

Ulangan 3

$$N\left(\frac{\text{CFU}}{\text{mL}}\right) = \frac{\sum C}{\{(1 \times n_1) + (0,1 \times n_2) \times d\}}$$

$$N\left(\frac{\text{CFU}}{\text{mL}}\right) = \frac{321}{\{(1 \times 1) + (0,1 \times 1)\}} \times 10^{-5}$$

$$N\left(\frac{\text{CFU}}{\text{mL}}\right) = \frac{321}{1,1 \times 10^{-5}}$$

$$N = 2,92 \times 10^7 \frac{\text{CFU}}{\text{mL}}$$

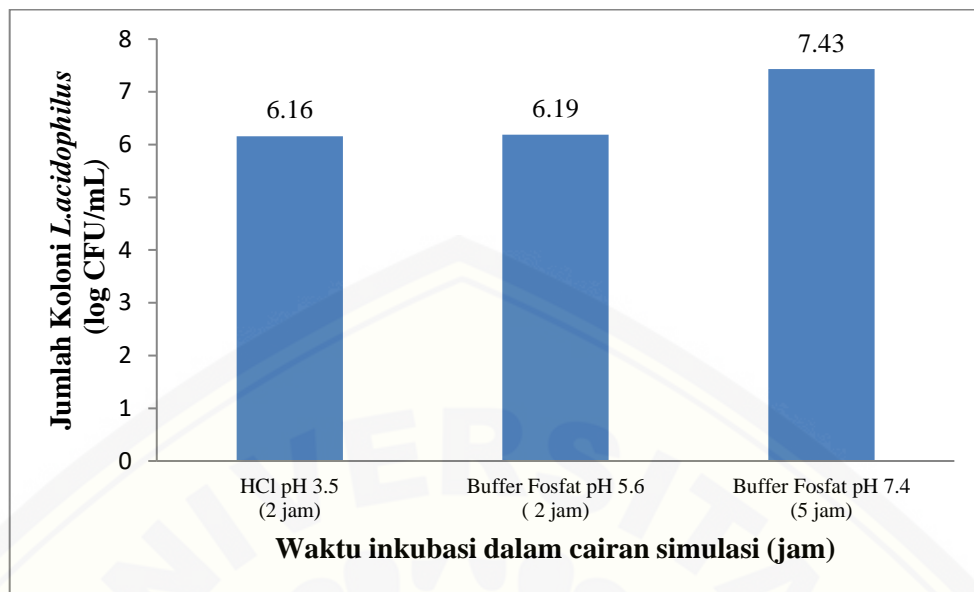
$$N = \log 2,92 \times 10^7 \frac{\text{CFU}}{\text{mL}}$$

$$N = 7,47 \log \frac{\text{CFU}}{\text{mL}}$$

Rata – rata

$$= \frac{(7,40 + 7,42 + 7,47) \log \text{CFU/mL}}{3}$$

$$= 7,43 \log \text{CFU/mL}$$



Grafik uji *in vitro* berdasarkan jumlah koloni *Lactobacillus acidophilus*



b. Kadar Gula Pereduksi

| Larutan              | Waktu (Jam) | Xilosa (Abs) |           |           | XOS (mg/mL) |           |           | Rata-rata ± SD |
|----------------------|-------------|--------------|-----------|-----------|-------------|-----------|-----------|----------------|
|                      |             | Ulangan 1    | Ulangan 2 | Ulangan 3 | Ulangan 1   | Ulangan 2 | Ulangan 3 |                |
| Mula-mula            | -           | 0,307        | 0,289     | 0,287     | 0,993       | 0,937     | 0,931     | 0,954 ± 0,034  |
| HCl pH 3,5           | 1           | 0,014        | 0,018     | 0,014     | 0,033       | 0,038     | 0,033     | 0,035 ± 0,003  |
|                      | 2           | 0,009        | 0,007     | 0,006     | 0,027       | 0,025     | 0,023     | 0,025 ± 0,002  |
| Buffer Fosfat pH 5,6 | 1           | 0,010        | 0,017     | 0,013     | 0,028       | 0,037     | 0,032     | 0,032 ± 0,004  |
|                      | 2           | 0,008        | 0,012     | 0,008     | 0,025       | 0,030     | 0,025     | 0,027 ± 0,003  |
| Buffer Fosfat pH 7,4 | 1           | 0,014        | 0,013     | 0,027     | 0,027       | 0,027     | 0,036     | 0,030 ± 0,005  |
|                      | 2           | 0,003        | 0,001     | 0,002     | 0,019       | 0,016     | 0,021     | 0,019 ± 0,002  |
|                      | 3           | ND           | ND        | ND        | ND          | ND        | ND        | -              |
|                      | 4           | ND           | ND        | ND        | ND          | ND        | ND        | -              |
|                      | 5           | ND           | ND        | ND        | ND          | ND        | ND        | -              |

ND: *Not Detected*

1) Perhitungan kadar gula pereduksi

**Mula-mula**

Ulangan 1

$$y = 3,225x - 0,0128$$

$$0,307 = 3,225x - 0,0128$$

$$0,307 + 0,0128 = 3,225x$$

$$0,3198 : 3,225 = x$$

$$x = 0,993 \text{ mg/mL}$$

Ulangan 2

$$y = 3,225x - 0,0128$$

$$0,289 = 3,225x - 0,0128$$

$$0,289 + 0,0128 = 3,225x$$

$$0,3018 : 3,225 = x$$

$$x = 0,937 \text{ mg/mL}$$

Ulangan 3

$$y = 3,225x - 0,0128$$

$$0,287 = 3,225x - 0,0128$$

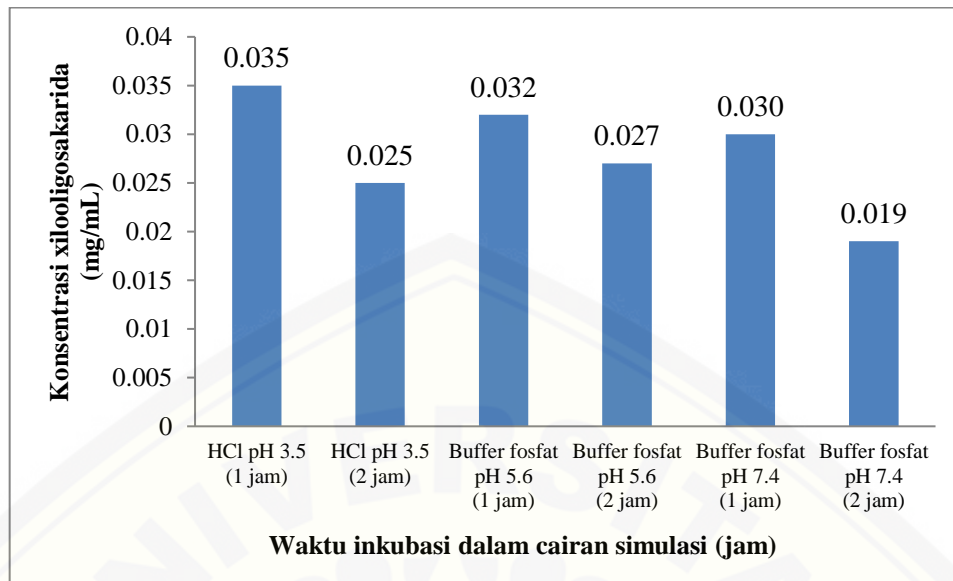
$$0,287 + 0,0128 = 3,225x$$

$$0,32998 : 3,225 = x$$

$$x = 0,931 \text{ mg/mL}$$

$$\text{Rata - rata} = \frac{(0,993 + 0,937 + 0,931) \text{ mg/mL}}{3}$$

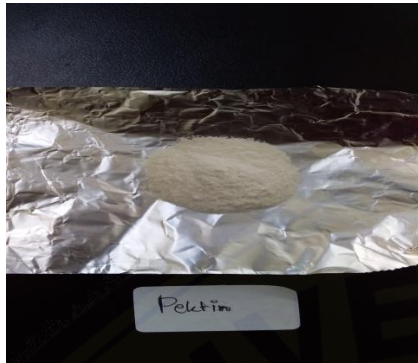
$$= 0,954 \text{ mg/mL}$$



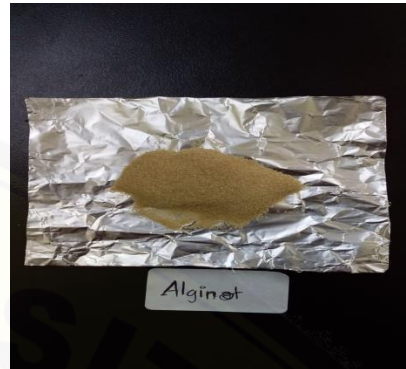
Grafik uji *in vitro* berdasarkan kadar gula pereduksi

4.4 Dokumentasi penelitian

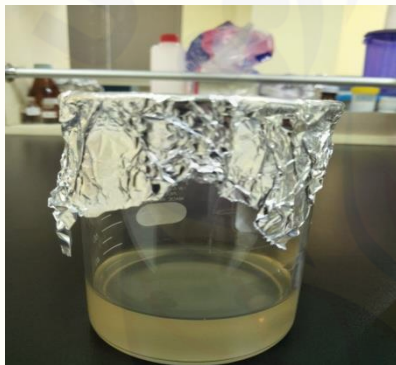
4.4.1 Pembuatan enkapsulan/*beads*



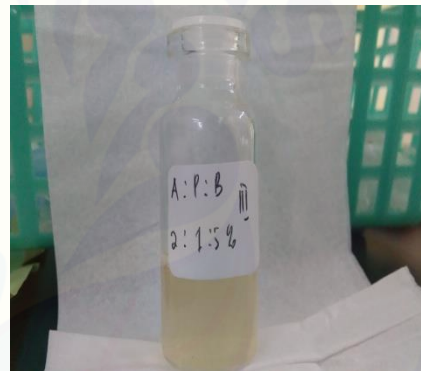
Serbuk Pektin



Serbuk Alginat



Campuran Alginat:Pektin



Campuran Alginat:Pektin: Boraks

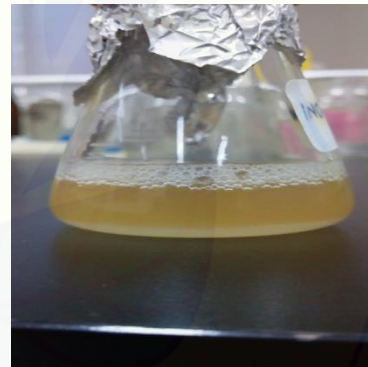
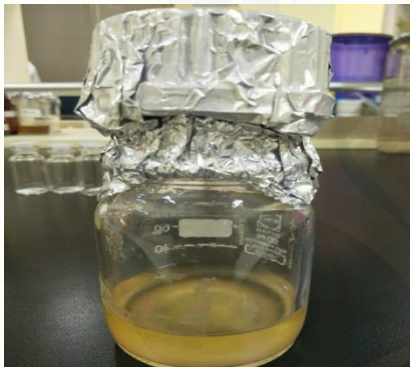


*Beads*

Alginat:Pektin: Boraks:XOS:*L.acidophilus*

Pembentukan *Beads* dengan  $\text{CaCl}_2$

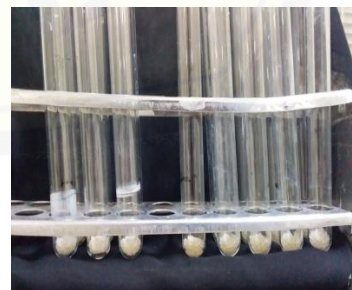
#### 4.4.2 Bahan Inti



Xilooligosakarida dari ampas singkong

*L.acidophilus*

#### 4.4.3 Uji Swelling dan *In Vitro*



*Beads* mula-mula setelah pengeringan suhu 37°C 120 menit



*Beads* mula-mula sebelum dilakukan uji *swelling* dan *in vitro*

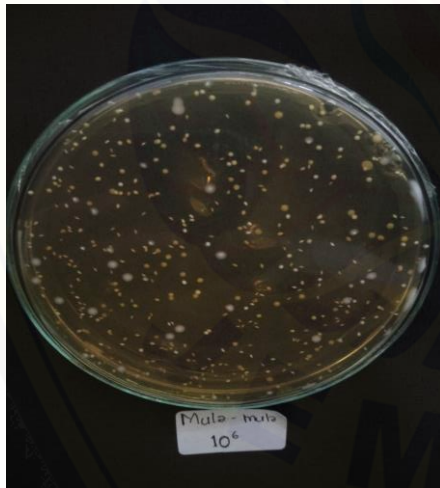


Inkubasi *beads* dengan cairan simulasi saluran pencernaan pada suhu 37°C

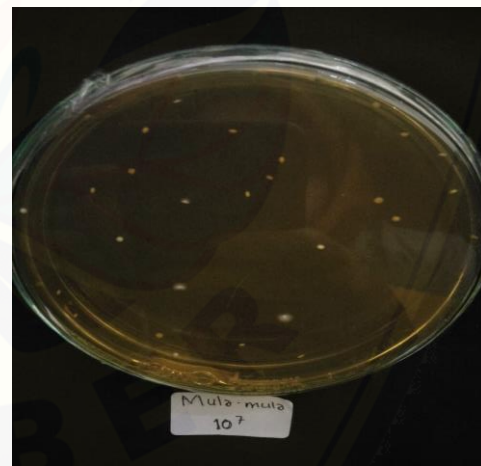
*Beads* setelah inkubasi pada pH 7.4 (kiri ke kanan)

1% ; 3% ; 5%

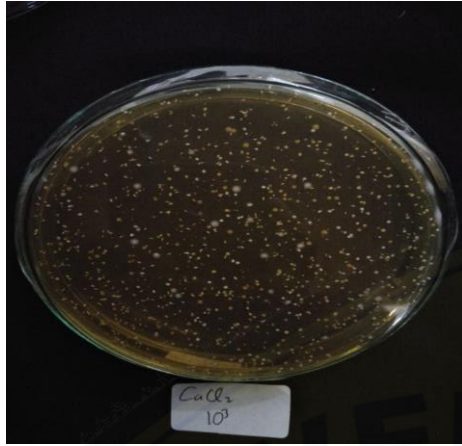
#### 4.4.4 Koloni *Lactobacillus acidophilus*



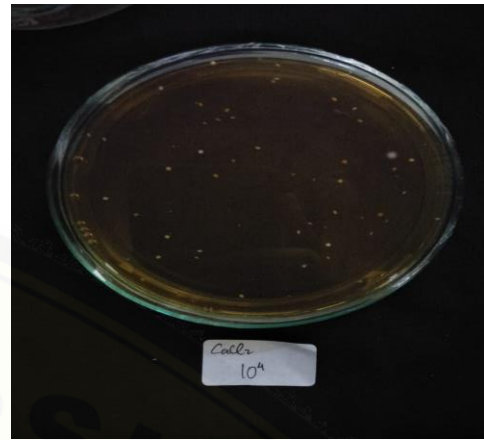
Mula-mula  $10^6$



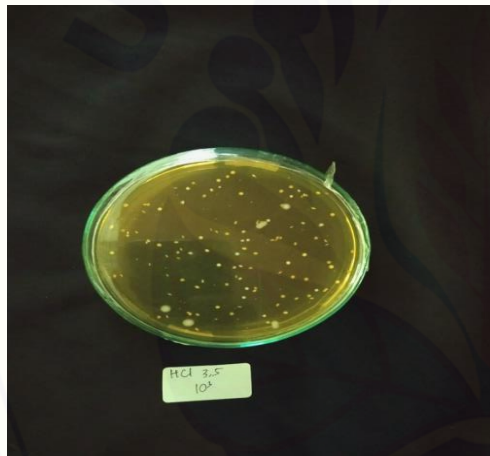
Mula-mula  $10^7$



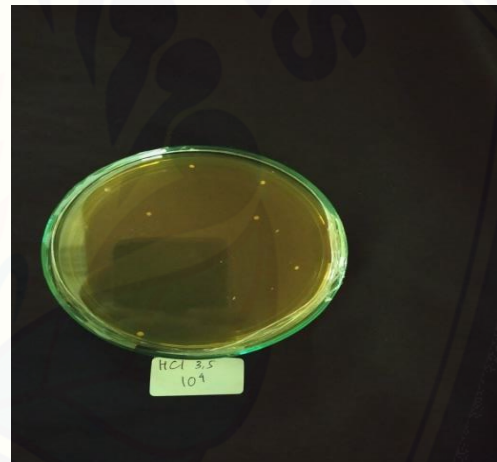
CaCl<sub>2</sub> 10<sup>3</sup>



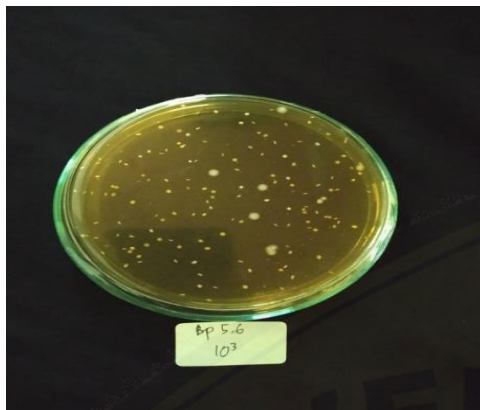
CaCl<sub>2</sub> 10<sup>4</sup>



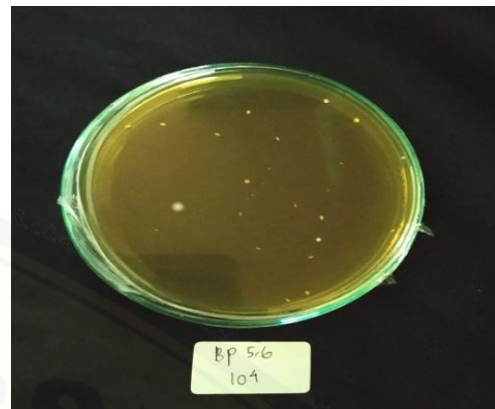
HCl pH 3.5 10<sup>3</sup>



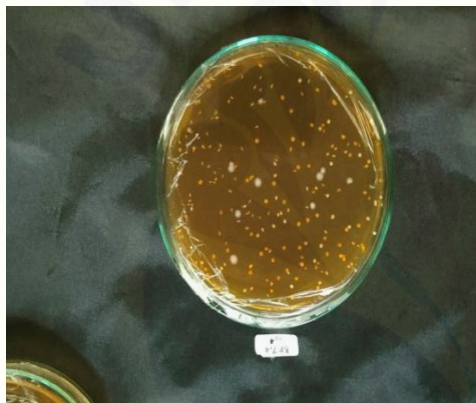
HCl pH 3.5 10<sup>4</sup>



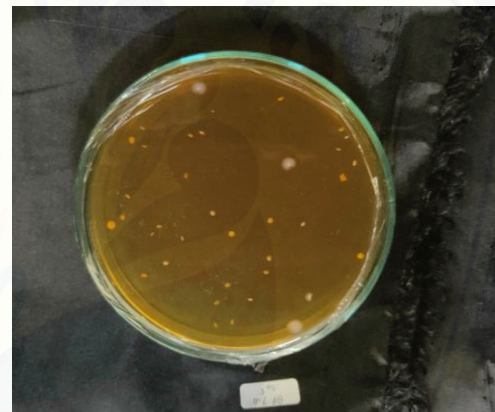
Buffer Fosfat pH 5.6  $10^3$



Buffer Fosfat pH 5.6  $10^4$



Buffer Fosfat pH 7.4  $10^4$



Buffer Fosfat pH 7.4  $10^5$