

**VIABILITAS *Lactobacillus* YANG DIIMOBILISASI  
ALGINAT-ZEOLIT**

**Tesis**

**Oleh**

**KINASIH CAHYONO  
1927021006**



**MAGISTER BIOLOGI  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS LAMPUNG  
BANDAR LAMPUNG  
2022**

## ABSTRAK

### VIABILITAS *Lactobacillus* YANG DIIMOBILISASI ALGINAT-ZEOLIT

Oleh

**Kinasih Cahyono**

*Lactobacillus* sp. merupakan salah satu jenis probiotik yang jika diberikan atau dikonsumsi dalam jumlah tertentu akan memberikan manfaat bagi inangnya. Namun, umumnya probiotik tidak tahan terhadap kondisi lingkungan yang asam dan salin. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh alginat zeolit terhadap viabilitas *Lactobacillus* sp. dan karakternya pada lingkungan yang sama dengan kondisi lingkungan asam lambung dan empedu ikan. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Kelompok Lengkap (RAKL) non faktorial. Perlakuan yang digunakan adalah matriks imobilisasi yang terdiri dari 4 jenis matriks yaitu alginat (IA), zeolit (IZ), kombinasi alginat-zeolit (IM) dan kontrol (K), masing-masing perlakuan diulang 6 kali. Data yang diperoleh dianalisis varian pada  $\alpha = 0,05$  dan dilanjutkan dengan uji *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) untuk melihat perbedaan antar perlakuan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa matriks imobilisasi mempengaruhi viabilitas *Lactobacillus* sp. dalam kondisi asam lambung (pH rendah); garam empedu, dan salinitas 10%. Viabilitas *Lactobacillus* sp. paling baik pada lingkungan pH rendah dan salinitas 10% diperoleh dari hasil imobilisasi menggunakan kombinasi matriks alginat-zeolit.

**Kata Kunci:** *Lactobacillus* sp., imobilisasi, alginat, zeolit, viabilitas

## ABSTRACT

### VIABILITY OF *Lactobacillus* IMMOBILIZED BY ALGINATE-ZEOLIT

By

**Kinasih Cahyono**

*Lactobacillus* sp. is one type of probiotic that will benefit the host if given or consumed in a certain amount of number. But, generally probiotics could not stand in the acid and saline environment. This research aimed to understand the influence of alginate-zeolite on the viability of *Lactobacillus* sp. and its characters in similar environmental conditions with the gastric acid and the fish bile. This research applied to non-factorial Completely Randomized Design (RAKL). The treatment used a matrix immobilization consisting of 4 types of the matrix: alginate (IA), zeolite (IZ), alginate-zeolite Combination (IM), and control (K) which was repeated six times. The data collected analyzed a variant on = 0,05 and continued to examine by *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) to see the differences between treatments. The result showed that Matrix immobilization affected the viability of *Lactobacillus* sp. in a low gastric acid (pH); bile salts and 10% salinity. The best viability *Lactobacillus* sp. was raised pH low and salinity 10 % obtained from the results of immobilization used a combination alginate-zeolite matrix.

**Keywords:** *Lactobacillus* sp., immobilized, alginate, zeolite, viability

**VIABILITAS *Lactobacillus* YANG DIIMOBILISASI  
ALGINAT-ZEOLIT**

**Oleh  
KINASIH CAHYONO**

**Tesis  
Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Mencapai Gelar  
MAGISTER SAINS**

**Pada  
Program Pascasarjana Magister Biologi  
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam  
Universitas Lampung**



**MAGISTER BIOLOGI  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS LAMPUNG  
BANDAR LAMPUNG  
2022**

Judul Tesis : **VIABILITAS *Lactobacillus* YANG  
DIIMOBILISASI ALGINAT-ZEOLIT**

Nama Mahasiswa : **Kinasih Cahyono**

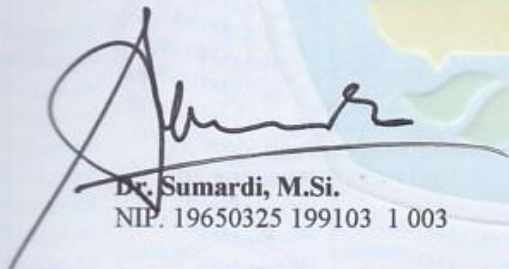
NPM : 1927021006

Jurusan / Program Studi : **Magister Biologi**

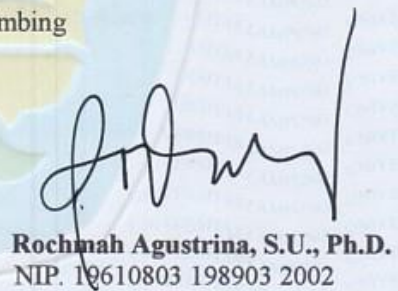
Fakultas : **Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam**

**MENYETUJUI,**

1. Komisi Pembimbing

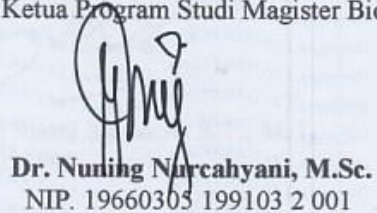


**Dr. Sumardi, M.Si.**  
NIP. 19650325 199103 1 003



**Rochmah Agustrina, S.U., Ph.D.**  
NIP. 19610803 198903 2002

2. Ketua Program Studi Magister Biologi



**Dr. Nuning Nurcahyani, M.Sc.**  
NIP. 19660305 199103 2 001

**MENGESAHKAN**

1. Tim Penguji

Ketua : **Dr. Sumardi, M.Si.**

Sekretaris : **Rochmah Agustrina, S.U., Ph.D.**

Penguji

Bukan Pembimbing 1: **Dr. Bambang Irawan, M.Sc.**

Bukan Pembimbing 2: **Prof. Neti Yuliana, M.Si., Ph.D.**

2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

**Dr. Eng. Satripto Dwi Yuwono, M.T.**  
NIP. 197407052000031001

3. Direktur Program Pascasarjana

**Prof. Dr. Ir. Ahmad Saudi Samosir, S.T., M.T.**  
NIP. 197104151998031005

Tanggal Lulus Ujian Tesis: **09 Juni 2022**

## LEMBAR PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan dengan sebenarnya bahwa:

1. Tesis dengan judul “Viabilitas *Lactobacillus* yang Diimobilisasi Alginat-Zeolit” adalah karya saya sendiri dan saya tidak melakukan penjiplakan atas karya orang lain dengan cara yang tidak sesuai dengan etika ilmiah yang berlaku dalam masyarakat akademik atau yang disebut plagiarisme.
2. Hak intelektual atas karya ini diserahkan sepenuhnya kepada Universitas Lampung.

Atas pernyataan ini, jika di kemudian hari terbukti pernyataan saya ini tidak benar, maka saya bersedia menerima sanksi akademik berupa pencabutan gelar akademik serta bersedia menerima tuntutan hukum yang berlaku.

Bandarlampung, 09 Juni 2022

Yang menyatakan



*Khasim Cahyono*  
**Khasim Cahyono**  
NPM. 1927021006

## RIWAYAT HIDUP



Penulis dilahirkan di Bandarlampung pada tanggal 08 Oktober 1995, merupakan anak Bungsu dari 9 bersaudara, anak dari pasangan Bapak Lasiyo dengan Ibu Murjiyem. Penulis beralamat di Jalan Beruang Gang Beruang II No. 16 Sukamenanti Kedaton Bandarlampung 35146. Nomor telephon 089622535256/082177365265.

Penulis mengawali pendidikan formal pada tahun 2001 di SD Negeri 1 Gedung Air Bandarlampung yang diselesaikan pada tahun 2007. Tahun 2007 diterima di SMP Negeri 7 Bandarlampung yang diselesaikan tahun 2010. Pada tahun 2010 penulis diterima di MA Negeri 2 Bandarlampung dan selesai pada tahun 2013. Tahun 2013 penulis diterima di Universitas Lampung Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Jurusan Pendidikan MIPA Program Studi Pendidikan Biologi dan meraih gelar Sarjana pendidikan (S.Pd.) pada tahun 2017. Pada tahun 2019, penulis Tercatat sebagai mahasiswa di program studi Magister Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam di Universitas Lampung. Penulis dinyatakan lulus sebagai Magister Sains (M.Si.) pada tahun 2022.



## MOTTO

إِنْ أَحْسَنْتُمْ أَحْسَنْتُمْ لِنَفْسِكُمْ وَإِنْ أَسَأْتُمْ فَلَهَا فَإِذَا جَاءَ وَعْدُ الْآخِرَةِ  
لِيَسْتَوُوا وَجُوهَكُمْ وَلِيَدْخُلُوا الْمَسْجِدَ كَمَا دَخَلُوهُ أَوَّلَ مَرَّةٍ وَلِيُتَبِّرُوا  
مَا عَلَوْا تَتَّبِرًا ﴿٧﴾

“Jika kamu berbuat baik, berarti kamu berbuat baik untuk dirimu sendiri.  
Dan jika kamu berbuat jahat, maka kerugian  
kejahatan itu untuk dirimu sendiri..”  
(QS Israa.17:7)

Barang siapa yang keluar dalam menuntut ilmu maka ia adalah seperti  
berperang di jalan Allah hinggang pulang.  
(H.R.Tirmidzi)

*Orang yang suka berkata jujur akan mendapatkan 3 hal, yaitu :*  
*KEPERCAYAN, CINTA dan RASA HORMAT.*  
(Sayidina Ali bin Abi Thalib)

**الْفَقْرُ الْأَمَانَةُ تَجْلِبُ الرِّزْقَ، وَالْخِيَانَةُ تَجْلِبُ**

Sifat amanat (dapat di percaya) itu membawa rezeki sedangkan  
sifat khianat itu membawa kefakiran  
(H.R. Tabrani dari abi umarah r.a)



**Dengan menyebut nama Allah yang Maha pengasih lagi Maha penyayang**

## **PERSEMBAHAN**

Segala puji hanya milik Allah SWT, atas rahmat dan nikmat yang selalu dilimpahkan.  
Sholawat serta salam selalu tercurah kepada Rasulullah SAW.

Ku persembahkan karya ini sebagai tanda bakti dan cinta kasihku yang tulus kepada:

Yang tercinta, Bapakku Lasiyo dan almarhumah Ibuku Murjiyem yang telah mendidik dan membesarkanku dengan segala doa terbaik mereka, kesabaran dan limpahan cinta dan kasih sayang, selalu mendukung segala langkahku untuk mencapai kesuksesan dan kebahagiaan, yang takkan pernah bisa terbalas sampai kapan pun.

Istriku Risyia Putri Dia Ocvika, S.Pd. yang telah mendampingi, mendoakan, mencintai, dan menyayangi ku sepenuh hati. Kamu adalah sosok manusia sempurna yang selalu mendengarkan keluhan, kegagalan, dan rasa tidak percaya diri suamimu, sehingga aku dapat bangkit dan berjuang untuk menyelesaikan tugas akhir ini dan berjuang untuk keluarga kecil kita.

Kedelapan kakakku tersayang Ana Mulyawati, Duwi Puji Astuti, Sarwo Edi Mulyono S.H., M.M., Derma Rimbawan, Arti Wuri Handayani, Yuli Siswani, Utari Ningsih, dan Lestari Puji Astitik, yang selalu memberikan semangat serta dukungan dan doa serta kasih sayangnya untukku, selalu mengingatkanku ketika aku mulai bosan dan mengeluh, selalu mendengarkan segala keluhanku, dan selalu memberikan motivasi sebagai cambuk agar menjadi pribadi yang tegar dalam menghadapi segala ujian.

Para pendidikku, atas ilmu, nasihat, serta arahan yang membuat aku mampu untuk melihat betapa indahnya ilmu pengetahuan.

Almamater tercinta, Universitas Lampung.

## SANWACANA

*Assalamualaikum Wr.Wb.*

Puji syukur kehadiran Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan Tesis dengan judul “Viabilitas *Lactobacillus* yang Diimobilisasi Alginat-Zeolit” adalah salah satu syarat untuk memperoleh gelar Magister Sains di Universitas Lampung.

Ucapan terimakasih penulis haturkan kepada semua pihak yang telah memberikan dukungan, bimbingan, bantuan, saran, serta kritik sehingga tesis ini dapat diselesaikan, antara lain kepada :

1. Bapak Prof. Dr. Karomani, M.Si., selaku Rektor Universitas Lampung.
2. Bapak Prof. Dr. Ir. Ahmad Saudi Samosir, S.T., M.T., selaku Direktur Program Pascasarjana Universitas Lampung.
3. Bapak Dr. Eng. Suripto Dwi Yuwono, M.T., selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.
4. Bapak Dr. Sumardi, M.Si., selaku pembimbing I, sekaligus Pembimbing Akademik atas semua motivasi, ilmu bermanfaat, bimbingan, bantuan, nasihat, saran, dan arahan, baik selama perkuliahan maupun dalam proses penyusunan tesis hingga selesai. Terimakasih atas pengalaman yang telah diberikan sebagai bekal untuk menjalani hidup ke depannya.
5. Ibu Rochmah Agustrina, S.U., Ph.D., selaku pembimbing II atas semua motivasi, ilmu bermanfaat, bimbingan, bantuan, nasihat, saran, dan arahan, baik selama perkuliahan maupun dalam proses penyusunan tesis hingga selesai.
6. Bapak Dr. Bambang Irawan, M.Sc. selaku pemapar I atas kesediaan meluangkan waktunya untuk memberikan arahan serta kritik dan saran sehingga tesis ini menjadi lebih baik

7. Ibu Prof. Neti Yuliana, M.Si., Ph.D., selaku pemabahas II atas kesediaan meluangkan waktunya untuk memberikan arahan serta kritik dan saran sehingga tesis ini menjadi lebih baik
8. Ibu Dr. Nuning Nurcahyani, M.Sc. selaku Ketua Program Studi Magister Biologi Universitas Lampung
9. Bapak Drs. M. Kanedi, M.Si. selaku Ketua Jurusan Biologi Universitas Lampung
10. Bapak Ir. Salam Farisi. M.Si. selaku kepala Laboratorium Mikrobiologi serta Mba Oni Mastuti yang sudah mengizinkan penulis melakukan penelitian di Laboratorium Mikrobiologi
11. Kedua orang tua ku yang selalu tidak berhenti mendoakan yang terbaik serta memberikan semangat dan dukungan hingga penulis dapat menyelesaikan tesis ini.
12. Istriku Risyia Putri Dia Ocvika, S.Pd. yang selalu ada disampingku untuk mendoakan dan memberikan semangat hingga penulis dapat menyelesaikan tesis ini
13. Kakak, mba, ipar, mertua, ponakan, dan keluarga besar Lasiyo Family tersayang yang telah memberikan motivasi serta tempat bertukar pikiran serta keluh kesah dalam proses penulisan tesis ini
14. Kepala Sekolah, seluruh dewan guru, rekan kerja, dan siswa-siswi Sekolah Qur'an Darul Fattah Lampung yang telah memberikan inspirasi untuk menjadi seorang pendidik dan motivasi yang sangat berharga
15. Sahabatku, Kurnia Dwi Permata Sari, S.Pi., Hanggita Sekar Teja Kusuma, S.Si., Rofi'e Tritho Muhammad, S.T., Adam Syuhada, S.Pd., Rizky Fitriyanti, S.Pd., Dessy Puspitasari Rusdiana, M.Pd., Saputra Wijaya, S.Pd., M. Khusnudin, S.Pd., Restu Dwi Aprian, S.Pd., Gr.,
16. Seluruh dosen dan civitas akademis Jurusan Biologi FMIPA Universitas Lampung terimakasih karena telah memberikan Ilmu pengetahuan selama masa perkuliahan
17. Squad Mikrobiologi (Rizka Oktavia, Krisna Lazuardhi Budi, Kiki Ariska, Ari Irmadhani dan Teman-teman Magister Biologi angkatan 2019 Universitas Lampung

18. Serta almamater Universitas Lampung yang tercinta

Demikianlah, semoga tesis ini dapat memberikan manfaat dan pengetahuan bagi setiap yang membacanya.

**Bandarlampung, 09 Juni 2022**

**Kinasih Cahyono**

## DAFTAR ISI

	Halaman
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	v
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	vi
<b>I. PENDAHULUAN</b>	
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Tujuan Penelitian .....	4
1.3 Manfaat Penelitian .....	4
1.4 Kerangka Pikir .....	5
1.5 Hipotesis .....	6
<b>II. TINJAUAN PUSTAKA</b>	
2.1 Probiotik.....	7
2.1.1 Bakteri <i>Lactobacillus</i> .....	8
2.2 Kondisi Lambung dan Empedu Ikan .....	9
2.3 Imobilisasi.....	10
2.3.1 Kapsulasi .....	10
2.3.2 Adsorpsi.....	11
2.3.3 Teknik Imobilisasi .....	12
2.4 Bahan Kapsul .....	12
2.4.1 Alginat .....	13
2.4.2 Zeolit.....	14
<b>III. METODE PENELITIAN</b>	
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian .....	16
3.2 Alat dan Bahan.....	16
3.2.1 Alat .....	16
3.2.2 Bahan.....	16
3.3 Rancangan Penelitian .....	17
3.4 Pelaksanaan Penelitian.....	17
3.4.1 Prosedur Penelitian .....	17
3.4.1.1 Pembuatan Media GYP .....	17
3.4.1.2 Pembuatan Larutan Pengeras CaCl <sub>2</sub> .....	17
3.4.1.3 Pembuatan Larutan Natrium Sitrat .....	18
3.4.1.4 Pembuatan Suspensi Bakteri .....	18
3.4.2 Imobilisasi <i>Lactobacillus</i> .....	18
3.4.2.1 Imobilisasi <i>Lactobacillus</i> dengan Alginat.....	18

3.4.2.2 Imobilisasi <i>Lactobacillus</i> dengan Zeolit .....	18
3.4.3.2 Imobilisasi <i>Lactobacillus</i> dengan Alginat Zeolit. ....	19
3.4.3 Uji Viabilitas <i>Lactobacillus</i> Terimobilisasi .....	19
3.4.3.1 Uji Viabilitas dalam Cairan Simulasi Lambung.....	19
3.4.3.2 Uji Viabilitas dalam Kondisi Cairan Empedu .....	19
3.4.3.3 Uji Viabilitas pada Salinitas yang Tinggi.....	20
3.4.4 Perhitungan Sel Bakteri dan Analisis .....	20
3.4.4.1 Perhitungan Suspensi Bakteri.....	20
3.4.4.2 Perhitungan Sel <i>Lactobacillus</i> Terimobilisasi.....	21
3.4.4.3 Analisis Morfologi Kapsul <i>Lactobacillus</i> .....	21
3.4.5 Analisis Statistik .....	22
<b>IV. HASIL PENGAMATAN DAN PEMBAHASAN</b>	
4.1 Hasil Penelitian dan Pembahasan .....	23
4.1.1 Analisis Morfologi Kapsul .....	23
4.1.2 Viabilitas <i>Lactobacillus</i> Terimobilisasi .....	24
4.1.3 Viabilitas <i>Lactobacillus</i> pada Simulasi Cairan Lambun .....	24
4.1.4 Viabilitas <i>Lactobacillus</i> pada Simulasi Garam Empedu 0,5% .....	25
4.1.5 Viabilitas <i>Lactobacillus</i> pada Salinitas 10%.....	25
4.2 Pembahasan .....	26
<b>V. KESIMPULAN DAN SARAN</b>	
5.1 Kesimpulan .....	33
5.2 Saran .....	33
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>34</b>
<b>LAMPIRAN .....</b>	<b>41</b>
Tabel 7-14 .....	42
Gambar 10-25 .....	44

## DAFTAR TABEL

Tabel 1. Tabel Rancangan Penelitian .....	17
Tabel 2. Hasil Analisis Morfologi Kapsul <i>Lactobacillus</i> .....	23
Tabel 3. Bakteri <i>Lactobacillus</i> Terimobilisasi .....	24
Tabel 4. Viabilitas <i>Lactobacillus</i> Terhadap Simulasi Cairan Asam Lambung ....	25
Tabel 5. Viabilitas <i>Lactobacillus</i> Terhadap Simulasi Garam Empedu ( <i>oxbile</i> 0,5%) .....	25
Tabel 6. Viabilitas <i>Lactobacillus</i> Terhadap Salinitas 10% .....	26
Tabel 7. Sel <i>Lactobacillus</i> Terimobilisasi (log cfu/ml) .....	42
Tabel 8. Viabilitas <i>Lactobacillus</i> Terimobilisasi Terhadap Simulasi Cairan Asam Lambung (log cfu/ml) .....	42
Tabel 9. Viabilitas <i>Lactobacillus</i> Terimobilisasi Terhadap Simulasi Garam Empedu <i>oxbile</i> 0,5% (log cfu/ml) .....	42
Tabel 10. Viabilitas <i>Lactobacillus</i> Terimobilisasi Terhadap Salinitas 10% .....	42
Tabel 11. Hasil Uji Anova Viabilitas <i>Lactobacillus</i> Terimobilisasi .....	43
Tabel 12. Hasil Uji Anova Viabilitas <i>Lactobacillus</i> terhadap Simulasi Cairan Asam Lambung .....	43
Tabel 13. Hasil Uji Anova Viabilitas <i>Lactobacillus</i> terhadap Simulasi Garam Empedu ( <i>oxbile</i> 0,5%) .....	43
Tabel 14. Hasil Uji Anova Viabilitas <i>Lactobacillus</i> terhadap Salinitas 10% .....	43



## DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Morfologi <i>Lactobacillus</i> .....	9
Gambar 2. Imobilisasi Bakteri dengan Cara Kapsulasi .....	11
Gambar 3 Imobilisasi dengan Cara Adsorpsi .....	11
Gambar 4. Diagram Teknik Ekstruksi Kapsulasi Probiotik .....	12
Gambar 5. SEM Permukaan luar kapsul alginat bakteri <i>P. aeruginosa</i> Strain M111 (pr = <i>protrusion</i> ) .....	13
Gambar 6. SEM Permukaan luar kapsul alginat bakteri <i>P. aeruginosa</i> Strain M111 (pr = <i>protrusion</i> ) .....	13
Gambar 7. Struktur Alginat .....	14
Gambar 8. Bentuk Tetrahedral Silika atau Alumina .....	15
Gambar 9. Kapsul alginat-zeolit(A) dan Kapsul alginat (B) dengan perbesaran 40X .....	23
Gambar 10. Proses Pembentukan Kapsul .....	44
Gambar 11. Kapsul <i>Lactobacillus</i> .....	44
Gambar 12. Pembuatan GYP Agar .....	44
Gambar 13. Suspensi Bakteri .....	44
Gambar 14. Pengukuran pH Uji Simulasi Cairan Lambung .....	44
Gambar 15. Oxbile 0,5% .....	44
Gambar 16. Kapsul Aginat Zeolit .....	45
Gambar 17. Kapsul Alginat .....	45
Gambar 18. Zeolit Bubuk .....	45

Gambar 19. Alginat Bubuk .....	45
Gambar 20. Kapsul Alginat Zeolit Perbesaran 40X .....	45
Gambar 21. Kapsul Alginat Perbesaran 40X .....	45
Gambar 22. Kalibrasi Mikrometer Lensa Okuler .....	46
Gambar 23. Pengukuran Kapsul Alginat .....	46
Gambar 24. Pengukuran Kapsul Alginat Zeolit.....	46
Gambar 25. Perhitungan Kapsul Menggunakan Mikrometer Lensa Okuler .....	46

## I. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Probiotik merupakan mikroba yang baik untuk meningkatkan fungsi sistem pencernaan ikan. Di dalam sistem pencernaan ikan, probiotik dapat meningkatkan efisiensi pakan dan menaikkan produktivitas ikan, selain itu probiotik juga dapat dimanfaatkan untuk menjaga kualitas air kolam atau tambak, dan mencegah atau mengatasi infeksi penyakit pada ikan. Salah satu probiotik yang mempengaruhi peningkatan pertumbuhan dan efisiensi pakan ikan adalah *Lactobacillus* sp. (Saselah dan Mandeno, 2017).

Beberapa persyaratan mikroba yang dapat dikembangkan menjadi probiotik menurut Harjuni *et al.* (2016) antara lain dapat melawan bakteri patogen dan toleran terhadap kondisi pH, garam empedu, dan salinitas yang ekstrim.

Sebagai probiotik *Lactobacillus* sp. harus mampu hidup dalam kondisi asam di dalam lambung ikan. Namun, umumnya bakteri asam laktat tidak dapat mempertahankan viabilitasnya pada kondisi asam (Harjuni *et al.*, 2016) sehingga menyebabkan kematian bakteri asam laktat (Hermana *et al.*, 2015). Yogeswara *et al.* (2014) membuktikan bahwa viabilitas bakteri *Lactobacillus acidophilus* yang disimpan dalam kondisi yang menyerupai keadaan cairan lambung menurun dengan semakin lamanya masa inkubasi pada suhu 25°C, demikian pula pada kondisi yang sama dengan lingkungan usus ikan yang mempunyai konsentrasi garam empedu tinggi. Hasil penelitian Suardana *et al.* (2015) menunjukkan bahwa uji ketahanan isolat *Lactobacillus* sp. terhadap konsentrasi garam empedu menunjukkan bahwa

*Lactobacillus* sp. tidak mampu mempertahankan viabilitasnya dalam lingkungan garam empedu.

Probiotik harus tahan terhadap lingkungan yang salin. Salinitas dapat mempengaruhi tekanan osmotik pada sel bakteri. Hasil penelitian Sari *et al.* (2009) menunjukkan bahwa salinitas berpengaruh terhadap pertumbuhan bakteri. Pada lingkungan salinitas yang tinggi (10%) bakteri tidak dapat tumbuh. Hasil penelitian (Maligan *et al.*, 2006) menunjukkan bahwa penambahan larutan NaCl 10% menyebabkan penurunan viabilitas bakteri. Strategi terbaik untuk mengatasi masalah cekaman asam, garam empedu dan salinitas yang ekstrim adalah dengan cara imobilisasi.

Imobilisasi bakteri adalah proses menjebak bakteri oleh matriks untuk melindungi bakteri dari kondisi lingkungan yang tidak menguntungkan (Rambe dan Linda, 2019). Menurut Junusmin *et al.* (2019), imobilisasi merupakan proses penjebakan bakteri oleh matriks untuk mengurangi mobilitas dan meningkatkan stabilitasnya. Imobilisasi probiotik terbukti dapat meningkatkan viabilitas bakteri saat di dalam saluran pencernaan (Hassanzadeh *et al.*, 2017). Penelitian yang dilakukan oleh Kailasapathy *et al.* (2005) menunjukkan bahwa imobilisasi dapat meningkatkan ketahanan bakteri di dalam simulasi kondisi asam lambung dan garam empedu.

Imobilisasi probiotik harus dilakukan dengan menggunakan bahan yang bersifat tidak toksik, umur simpannya panjang, harganya murah, nutrient dapat berdifusi dengan baik, dan mudah dalam penanganannya. Alginat merupakan matrik yang sering digunakan dalam imobilisasi bakteri (Florenza, 2014). Hasil penelitian Wijayanti (2020) menunjukkan bahwa *Bacillus coagulans* yang diimobilisasi menggunakan matriks alginat 10% dapat menurunkan kandungan total amonia nitrogen (TAN) sampai 50%. Hasil penelitian Junaidi (2018) menunjukkan bahwa jumlah bakteri yang terjepit dalam bahan imobilisasi alginat-kitosan belum optimum, dapat

dilihat dari berkurangnya jumlah populasi probiotik dalam kapsul yaitu 7,90 log cfu/ml.

Berdasarkan uji viabilitasnya Mawaddana (2015) membuktikan bahwa viabilitas *Lactobacillus caseii* yang diimobilisasi dengan menggunakan alginat menurun drastis dalam kondisi yang menyerupai lingkungan asam lambung. Salah satu kelemahan imobilisasi menggunakan alginat adalah membran alginat mudah terdegradasi dengan cepat pada pH rendah sehingga kehilangan kestabilannya jika terdapat senyawa pengikat seperti fosfat dan sitrat (Krasaekoopt *et al.*, 2003).

Imobilisasi bakteri yang hanya menggunakan alginat masih dapat menyebabkan terlepasnya bakteri dari dalam matriks. Penambahan matriks lain yang dikombinasikan dengan alginat dapat meningkatkan kekuatan penjerat dalam melindungi sel (Monedero *et al.*, 2010). Selain alginat, imobilisasi juga dapat menggunakan bahan dari zeolit. Menurut Florenza (2014) menurunnya penjeratan bakteri oleh matriks mengakibatkan bakteri terlepas. Oleh karena itu, alginat dapat dikombinasi dengan matriks lain untuk meningkatkan kemampuan melindungi bakteri yang dijerat. Zeolit merupakan senyawa aluminosilikat yang dikenal memiliki daya adsorpsi yang baik (Atikah, 2017) sehingga cocok digunakan untuk mengimobilisasi bakteri (Abaeva *et al.*, 2015). Hasil penelitian Rahmawati (2017) membuktikan bahwa pemberian probiotik dengan zeolit mempengaruhi kepadatan bakteri pada usus ikan koi (*C. carpio*) dengan jumlah kepadatan bakteri mencapai 13,55 log cfu/ml. Zeolit tidak dapat dibentuk kapsul, karena zeolit bukan senyawa hidrokoloid melainkan kristal silikat alumina yang terdiri dari  $AlO_4$  dan  $SiO_4$  (Hassanzadeh *et al.*, 2017).

Penelitian imobilisasi *Lactobacillus* sp. menggunakan matriks kombinasi alginat zeolit sudah pernah dilakukan oleh Hassanzadeh *et al.* (2017). Dalam penelitian tersebut simulasi cairan asam lambung mengandung 3,2

gram pepsin dan diatur pHnya menjadi 2,1 menggunakan HCl 0,1 M dan NaCl 0,5%. Sedangkan simulasi garam empedu mengandung 10 gram glukosa, 5 gram ekstrak ragi, 10 gram *pancreatin*, dan 8 gram garam empedu. Sejauh ini belum ada penelitian imobilisasi bakteri menggunakan matriks alginat zeolit dan media GYP sebagai media tumbuh bakteri. Demikian pula dengan uji daya tahan terhadap kondisi pH rendah menggunakan larutan HCl, garam empedu sintetik (*oxbile*), dan salinitas 10%.

Berdasarkan uraian tersebut maka dalam penelitian ini dilakukan studi untuk mengetahui viabilitas probiotik yang diimobilisasi menggunakan matriks alginat-zeolit terhadap kondisi lingkungan yang menyerupai kondisi asam lambung, garam empedu, dan salinitas 10%.

## **1.2 Tujuan Penelitian**

Tujuan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut.

1. Mengetahui pengaruh matriks alginat-zeolit terhadap morfologi kapsul *Lactobacillus* sp. yang dihasilkan.
2. Mengetahui pengaruh kapsul matriks alginat-zeolit terhadap viabilitas *Lactobacillus* sp. terimobilisasi yang diinkubasi pada simulasi cairan asam lambung dan salinitas yang ekstrim.

## **1.3 Manfaat Penelitian**

Hasil yang diperoleh dalam penelitian ini dapat dimanfaatkan untuk membuat probiotik terimobilisasi yang mempunyai viabilitas tinggi di dalam lingkungan sistem pencernaan ikan yang murah dan mudah diperoleh, sehingga bermanfaat bagi petani budidaya ikan.

#### 1.4 Kerangka Pikir

*Lactobacillus* sp. sebagai probiotik agar dapat memberikan manfaat kepada inangnya harus dapat bertahan hidup dalam sistem saluran pencernaan ikan. Kondisi yang sangat asam dan salin dalam saluran pencernaan ikan mengakibatkan kerusakan membran sel bakteri sehingga terjadi lisis pada sel bakteri. Upaya untuk menanggulangi hal tersebut adalah imobilisasi *Lactobacillus* sp.. Imobilisasi harus dilakukan dengan menggunakan matriks yang tidak toksik, umur simpannya panjang, harganya murah, nutrisi dapat berdifusi dengan baik, dan mudah dalam penanganannya. Alginat merupakan salah satu jenis hidrokoloid yang bersifat hidrofilik dan dapat membentuk gel yang stabil pada kondisi panas sehingga mampu melindungi bakteri dari lingkungan yang ekstrim. Imobilisasi bakteri menggunakan alginat dapat melindungi sel bakteri yang terperangkap sementara mikronutrien dan metabolit tetap dapat berdifusi ke dalam dan luar matriks. Sehingga kapsul yang mengandung sel-sel bakteri tetap aktif bermetabolisme. Dalam penelitian ini *Lactobacillus* sp. diimobilisasi menggunakan bahan kombinasi alginat zeolit dengan metode ekstrusi. Zeolit digunakan karena memiliki kemampuan penyerapan yang tinggi, banyak pori, permukaannya luas, dan daya tukar kation yang baik. Zeolit tidak dapat membentuk gel atau kapsul sehingga diperlukan alginat untuk membentuk gel yang stabil pada kondisi asam dan salin. Kombinasi matriks alginat-zeolit mempunyai kemampuan membentuk kapsul dengan natrium atau kalsium alginat melalui ikatan hidrogen antara gugus karboksil dan hidroksil. Penggunaan zeolit dalam imobilisasi bakteri sebagai material *filler* anorganik dan gugus polar pada kerangka alumina silika zeolit berperan penting dalam menjebak bakteri. *Filler* memberikan kekokohan pada kapsul alginat-zeolit. Pori pada kapsul alginat diisi dengan zeolit dan terjadi ikatan kimia. Dengan demikian imobilisasi alginat-zeolit dapat mempertahankan viabilitas *Lactobacillus* sp. yang terperangkap di dalamnya.

## 1.5 Hipotesis

Hipotesis pada penelitian ini adalah:

1. matriks alginat-zeolit berpengaruh terhadap morfologi kapsul *Lactobacillus* sp. yang dihasilkan
2. kapsul matriks alginat-zeolit berpengaruh terhadap viabilitas *Lactobacillus* sp. terimobilisasi yang diinkubasi pada kondisi pH dan salinitas yang ekstrim.



## II. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Probiotik

Probiotik, dari kata Yunani yang berarti "seumur hidup", dan didefinisikan sebagai organisme hidup yang memberikan manfaat kesehatan bagi inang ketika konsentrasi di dalam tubuh inang cukup (Serna-cock, 2013). Probiotik menurut Puspitaningsih (2015) adalah mikroba hidup yang digunakan sebagai pakan tambahan yang dapat menguntungkan inangnya karena dapat meningkatkan keseimbangan mikrobial pencernaannya. Pemberian probiotik hidup dalam jumlah yang cukup dapat mempengaruhi komposisi dan ekosistem mikroflora pencernaannya.

Beberapa mikroorganisme yang dapat berperan sebagai probiotik antara lain: *Lactobacillus*, *Bacillus*, *Nitrosomonas* dan *Nitrobacter*. Mikroorganisme tersebut dapat meningkatkan dekomposisi limbah serta meningkatkan kualitas air. Pemberian probiotik dalam lingkungan budidaya perairan ikan dapat meningkatkan imun terhadap penyakit, memperbaiki sistem pencernaan ikan, memperbaiki kualitas air, meningkatkan kelangsungan hidup, dan dapat meningkatkan laju pertumbuhan ikan sehingga dapat meningkatkan produksi ikan (Primashita *et al.*, 2017). Kegiatan budidaya perikanan yang intensif sangat penting dilakukan untuk meningkatkan produksi, namun dalam proses budidaya intensif sering timbul berbagai masalah terutama yang berkaitan dengan kualitas air dan kesehatan ikan (Sumule *et al.*, 2017).

Dalam budidaya ikan, probiotik diberikan bersamaan dengan pakan ikan. Peran probiotik di dalam sistem pencernaan ikan adalah menghasilkan beberapa enzim seperti *amylase*, *protease*, *lipase* dan *selulose*. Enzim tersebut membantu menghidrolisis nutrisi dalam pakan menjadi molekul yang lebih sederhana sehingga mempercepat proses pencernaan dan penyerapan dalam saluran pencernaan ikan (Arief *et al.*, 2017). Probiotik dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme patogen serta merangsang respon imun ikan (Gatlin dan Peredo, 2012). Menurut

Wardika *et al.* (2014) penggunaan probiotik dalam budidaya ikan merupakan solusi untuk meningkatkan efisiensi pakan dan pertumbuhan ikan yang optimal, sehingga dapat mengurangi biaya produksi dan polusi lingkungan akibat akumulasi limbah pakan di perairan. Menurut Fajri *et al.* (2015) probiotik merupakan bakteri (mikroba) yang dapat dijadikan sebagai *feed additive* (bahan tambahan) yang memberikan efek menguntungkan bagi kesehatan ikan. Pemberian probiotik dapat memperbaiki keseimbangan mikroflora intestinal, sehingga dapat memberikan perlindungan terhadap serangan penyakit dan meningkatkan daya cerna pakan. Namun, umumnya mikroba sebagai probiotik tidak tahan terhadap kondisi lingkungan pencernaan yang asam dan salin (Burgain *et al.*, 2011). Bakteri yang dapat menjadi probiotik harus memenuhi kriteria tertentu. Menurut Kadir (2016) syarat suatu mikroba dapat menjadi probiotik yaitu mikroba tidak bersifat patogen, dapat melakukan kolonisasi di dalam usus, tahan terhadap asam lambung, dan garam empedu. Selain itu Setiarto *et al.* (2018) menambahkan syarat kandidat probiotik adalah dapat tumbuh dan bermetabolisme dengan cepat, memiliki antimikroba terhadap bakteri patogen, dan viabilitas tinggi selama proses penyimpanan.

### **2.1.1 Bakteri *Lactobacillus***

*Lactobacillus* sp. adalah bakteri dari genus bakteri asam laktat yang paling banyak dijumpai dalam saluran gastro intestinal, baik pada manusia maupun hewan (Sunaryanto dan Marwoto, 2012). Menurut Puspawati *et al.* (2011) *Lactobacillus* sp. adalah genus bakteri gram positif, anaerobik fakultatif atau mikroaerofilik, dan berbentuk batang. Genus bakteri ini termasuk kelompok bakteri asam laktat yang hidup sebagai mikroflora normal di dalam saluran pencernaan, saluran kemih, dan di dalam vagina serta memiliki peranan penting dalam fermentasi pangan. Beberapa hasil penelitian sebelumnya membuktikan bahwa bakteri probiotik seperti *Lactobacillus* sp. dapat memperkuat sistem imun, mengatasi diare baik yang disebabkan oleh rotavirus maupun oleh bakteri (Sunaryanto dan Marwoto, 2012). *Lactobacillus* sp. dalam perairan menurut Hardiyana *et al.* (2020) dapat meningkatkan kualitas air dengan cara mempercepat perombakan bahan organik dan menekan mikroorganisme merugikan sehingga dapat mempengaruhi nilai DO (*Dissolved Oxygen*), pH dan meningkatkan nutrisi dalam perairan. *Lactobacillus* sp. dapat

menguraikan senyawa toksik yang terdapat dalam air kolam seperti  $\text{NH}_3$ ,  $\text{NO}_3$ , dan  $\text{NO}_2$

Klasifikasi bakteri *Lactobacillus* sp. menurut Beijerinck (1901) adalah sebagai berikut.

Kingdom : Bacteria  
 Divisi : Firmicutes  
 Kelas : Bacilli  
 Ordo : Lactobacillales  
 Famili : Lactobacillaceae  
 Genus : *Lactobacillus*  
 Spesies : *Lactobacillus* sp.



Gambar 1. Morfologi *Lactobacillus* sp. (Arasu *et al.*, 2015).

## 2.2 Kondisi Lambung dan Empedu Ikan

Kondisi lambung ikan memiliki pH 2-2,2 (Pullin dan Lowe-McConnel, 1982). pH lambung ikan dalam keadaan kosong mencapai 1,5. Asam lambung pada ikan dihasilkan oleh sel-sel parietal yang menyebabkan cairan lambung bersifat asam. Kondisi lambung yang asam berfungsi untuk membunuh kuman/bakteri yang tidak tahan asam, membantu pencernaan protein dan mengaktifkan enzim pepsinogen (Florenza, 2014).

Garam empedu menyebabkan faktor cekaman yang paling ekstrim terhadap probiotik selama berada dalam usus halus. Garam empedu dapat menembus dan bereaksi dengan membran plasma bakteri yang bersifat lipofilik. Hal ini dapat mengakibatkan

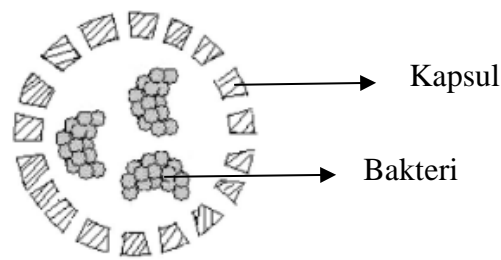
perubahan dan kerusakan struktur membran sel bakteri (Oh *et al.*, 2000). Kondisi usus ikan mengandung garam empedu dengan pH 6,6 - 8,8 (Nanasombat *et al.*, 2008). Menurut Florenza (2014) konsentrasi garam empedu ikan berkisar 0,5% - 2% pada satu jam pertama proses pencernaan berlangsung dan akan menurun pada satu jam berikutnya.

## **2.3 Imobilisasi**

Imobilisasi probiotik merupakan suatu metode untuk menempatkan sel mikroba secara fisik pada suatu ruang tertentu namun sel bakteri tersebut masih memiliki aktivitas katalitik (Hassanzadeh *et al.*, 2017). Imobilisasi menurut Junusmin *et al.* (2019) merupakan proses menjebak sel bakteri oleh matriks untuk mengurangi mobilitasnya dan meningkatkan stabilitasnya. Menurut Wijayanti (2020) imobilisasi bakteri adalah metode pengurangan fisik atau lokalisasi bakteri dalam lingkungan tertentu untuk memaksimalkan aktivitas biokatalisnya. Tidak hanya di bidang bioteknologi, imobilisasi juga telah banyak dilakukan di bidang farmasi, lingkungan, makanan, dan industri biosensor.

### **2.3.1 Kapsulasi**

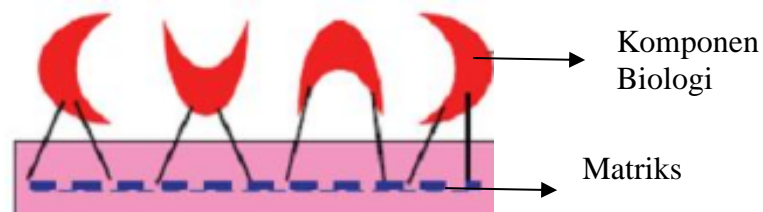
Kapsulasi merupakan proses fisiokimia atau mekanisme penjebakan. Substansi kapsulasi adalah bahan inti yang terjepit dalam suatu matriks atau lapisan yang dapat membentuk kapsul dengan diameter beberapa millimeter yang terbuat dari bahan hidrokoloid (Wijayanti, 2020). Kapsulasi menurut Burgain *et al.* (2011) adalah proses memerangkap sesuatu ke dalam bahan dalam bentuk kapsul. Sesuatu yang diperangkap dalam kapsul bisa dalam bentuk bahan inti, zat aktif, atau zat pengisi. Bahan yang digunakan untuk memerangkap disebut penyalut, cangkang, dinding, atau matriks (Zuidam dan Nedovic, 2010). Dalam kapsulasi probiotik bahan kapsul harus berfungsi sebagai pelindung probiotik, aman untuk dimakan, dan hemat biaya karena biaya tinggi akan secara langsung mempengaruhi nilai produk akhir. Bahan kapsul berbiaya rendah contohnya adalah: pati, inulin, pectin, dan sebagian besar karbohidrat (De Vos *et al.*, 2010).



Gambar 2. Imobilisasi Bakteri dengan Cara Kapsulasi (Bouabidi *et al.*, 2019).

### 2.3.2 Adsorpsi

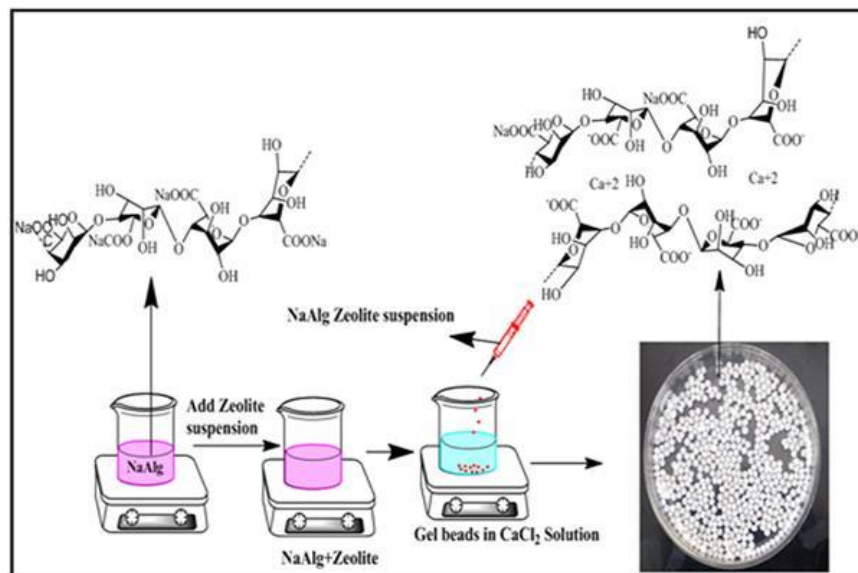
Adsorpsi adalah proses pemisahan bahan dari suatu campuran gas/cair dimana bahan yang akan dipisahkan berinteraksi pada permukaan zat padat (adsorben). Proses Adsorpsi berbeda dengan absorpsi, karena molekul-molekul yang mengalami absorpsi masuk ke dalam penjerat (absorben) tidak hanya di permukaan saja (Astuti, 2018). Imobilisasi dengan teknik adsorpsi merupakan metode imobilisasi sel yang paling sederhana. Cara ini berdasarkan pada interaksi fisik antara mikroorganisme dengan permukaan matriks. Interaksi yang terjadi antara bakteri dengan matriks merupakan ikatan yang lemah seperti gaya *van der Waals*, ikatan ionik, ikatan hidrogen maupun interaksi hidrofobik sehingga mikroorganisme yang terimobilisasi dapat lepas dengan mudah dari matriknya (Wijayanti, 2020). Menurut Handayani (2013) imobilisasi dengan cara adsorpsi adalah metode yang paling sederhana, karena hanya melibatkan permukaan interaksi reversibel antara sel dan matriks seperti ditunjukkan pada Gambar 3 yang menunjukkan campuran komponen biologis yang diimobilisasi matriks.



Gambar 3. Imobilisasi dengan cara adsorpsi (Handayani, 2013).

### 2.3.3 Teknik Imobilisasi

Teknik ekstrusi merupakan teknik imobilisasi tertua dan paling umum untuk menghasilkan kapsul menggunakan bahan hidrokoloid, misalnya: alginat dan karagenan. Caranya adalah dengan menambahkan probiotik ke dalam larutan hidrokoloid natrium alginat, kemudian diteteskan ke dalam larutan pengeras ( $\text{CaCl}_2$ ) menggunakan spuit (Gambar 4). Ukuran dan bentuk kapsul yang dihasilkan tergantung pada diameter *nose* dan jarak antara *nose* dengan larutan  $\text{CaCl}_2$ . Metode ini tergolong sederhana dan hemat biaya, tidak menyebabkan kerusakan pada sel dan menghasilkan viabilitas sel probiotik yang tinggi. Teknologi ini tidak menggunakan pelarut berbahaya dan dapat dilakukan di bawah kondisi aerobik dan anaerobik (Krasaekoopt *et al.*, 2003).

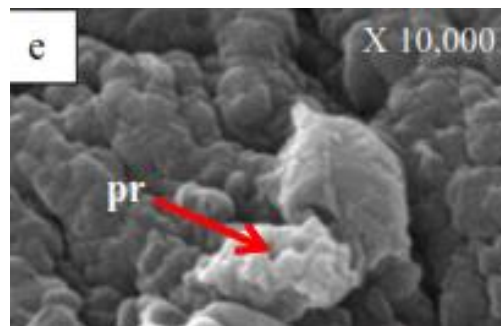


Gambar 4. Diagram teknik ekstrusi kapsulasi probiotik (Sana dan Boya, 2018).

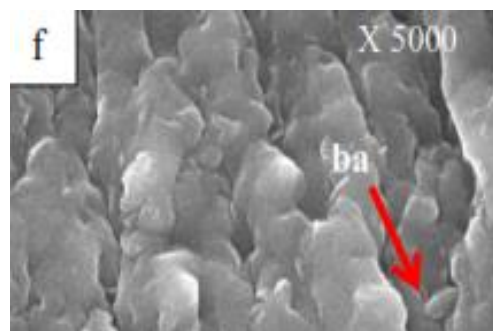
## 2.4 Bahan Kapsul

Imobilisasi harus dilakukan dengan menggunakan bahan yang dapat mempertahankan viabilitas bakteri yang dijerapnya. Kriteria matriks yang harus digunakan dalam imobilisasi bakteri antara lain: tidak bersifat toksik; tidak menyebabkan polusi; memiliki retensi biomassa sel yang tinggi; memiliki stabilitas mekanik biologis dan kimia yang tinggi; umur simpan yang panjang; harga yang murah; dapat memfasilitasi

mekanisme difusi nutrient dengan baik; serta mudah dalam penanganannya (Bayat *et al.*, 2015). Metode immobilisasi dapat dilakukan dengan beberapa cara antara lain kapsulasi dan adsorpsi. Bakteri terimmobilisasi dapat berada di dalam dan permukaan kapsul. Bakteri terimmobilisasi dibagian luar kapsul disebut *protrusion*. *Protrusion* merupakan kumpulan dari sel bakteri yang membentuk struktur biofilm seperti terlihat pada Gambar 5 dan 6 (Prastyo, 2017).



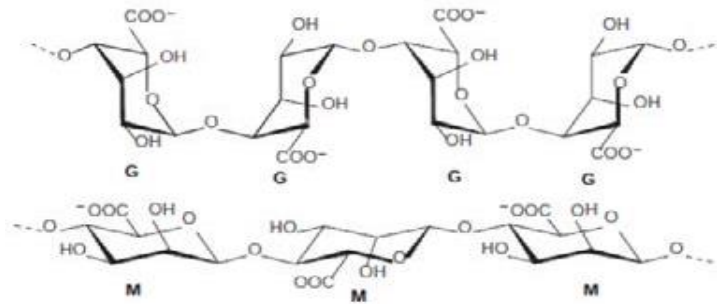
Gambar 5. SEM Permukaan luar kapsul alginat bakteri *P. aeruginosa* Strain M111 (pr = *protrusion*) (Prastyo, 2017).



Gambar 6. SEM Permukaan dalam kapsul alginat bakteri *P. aeruginosa* Strain M111 (ba = bakteri) (Prastyo, 2017)

#### 2.4.1 Alginat

Alginat adalah garam dari asam alginat yang merupakan kopolimer dari blok  $\beta$ -D-mannuronic acid (M) dan epimer C-5, asam  $\alpha$ -L-guluronic (G), dihubungkan bersama untuk membentuk polisakarida linier dengan ikatan (1,4)-glikosidik yang terlihat pada gambar 7 berikut:



Gambar 7. Struktur Alginat (blok G, blok M dan blok MG) (Wulandari *et al.*, 2019).

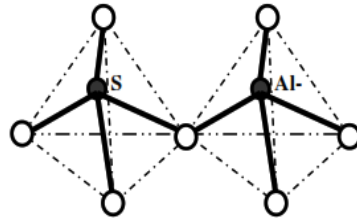
Alginat adalah bahan yang paling umum digunakan untuk membuat kapsul karena kompatibel dengan hampir semua metode kapsulasi, dan biasanya dikombinasikan dengan bahan lain (Burgain *et al.*, 2011). Alginat merupakan salah satu jenis hidrokoloid, yaitu suatu sistem koloid polimer organik di dalam air. Alginat dapat membentuk gel yang stabil pada kondisi panas (Herawati, 2018). Pemanfaatan alginat didasarkan pada tiga sifat utamanya yaitu yang pertama kemampuannya dalam menaikkan viskositas larutan apabila alginat dilarutkan dalam air. Kedua kemampuan alginat untuk membentuk gel. Ketiga kemampuan alginat untuk membentuk film natrium atau kalsium alginat dan fiber kalsium alginat (Subaryono, 2010).

#### 2.4.2 Zeolit

Zeolit merupakan mineral yang cukup melimpah di Indonesia, karena wilayah Indonesia sebagian besar terdiri dari batuan gunung api yang merupakan sumber mineral zeolit. Kandungan utama zeolit adalah silikon, aluminium, dan oksigen. Probiotik dapat terperangkap pada bahan zeolit yang memiliki sifat berpori dan adhesi. Zeolit adalah kristal silikat alumina yang terdiri dari  $AlO_4$  dan  $SiO_4$  unit struktural (Hassanzadeh *et al.*, 2017). Septiani (2011) menjelaskan sifat yang dimiliki oleh zeolit dapat dimodifikasi menjadi katalis, adsorben, dan dapat digunakan sebagai bahan imobilisasi. Adanya ruang pori dalam zeolit mengakibatkan zeolit memiliki sifat kapasitas tukar kation yang tidak hanya dimanfaatkan sebagai penyerap unsur hara, akan tetapi dapat digunakan sebagai



adsorben, pengikat logam-logam berat, dan bakteri (Fitriyah, 2016). Berdasarkan struktur kimia, zeolit memiliki bentuk seperti gambar di bawah ini:



Gambar 8. Bentuk tetrahedral silika atau alumina (Las dan Zamroni, 2002).

### III. METODE PENELITIAN

#### 3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Maret 2021 - Januari 2022 di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.

#### 3.2 Alat dan Bahan

##### 3.2.1 Alat

Alat yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah: *glass ware*, jarum ose, mikropipet, rak tabung reaksi, oven, bunsen, autoklaf (Vision), lemari pendingin (LG), *colony counter*, vortex, spatula, neraca analitik, *hot plate* (Favorit), *magnetic stirrer* (Thermo), *Laminar Air Flow* (LAF), kertas indikator pH, jarum suntik (Terumo) 23 G x 1 ¼, kertas saring, mikroskop binokuler, dan mikrometer lensa okuler.

##### 3.2.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah: bakteri *Lactobacillus* sp. diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung yang merupakan hasil penelitian sebelumnya. Adapun bahan kimia yang dibutuhkan dalam penelitian ini yaitu: alginat, zeolit, media GYP (glukosa, yeast, dan pepton), NaCl, CaCO<sub>3</sub>, CaCl<sub>2</sub>, akuades steril, HCl, garam empedu sintetik (*ox bile*) 0,5%, dan natrium sitrat (Na<sub>3</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>O<sub>7</sub>).

### 3.3 Rancangan Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan Rancangan Acak Kelompok Lengkap (RAKL) nonfaktorial yang terdiri dari 4 perlakuan, masing masing perlakuan diulang 6 kali (Tabel 1).

Tabel 1. Tabel Rancangan Penelitian

Perlakuan	Pengulangan					
	1	2	3	4	5	6
K	K1	K2	K3	K4	K5	K6
IA	IA1	IA2	IA3	IA4	IA5	IA6
IZ	IZ1	IZ2	IZ3	IZ4	IZ5	IZ6
IM	IM1	IM2	IM3	IM4	IM5	IM6

**Keterangan:** (K): bakteri *Lactobacillus* sp. tanpa imobilisasi, (IA): bakteri *Lactobacillus* sp. yang diimobilisasi menggunakan alginat, (IZ): bakteri *Lactobacillus* sp. yang diimobilisasi menggunakan zeolit, dan (IM): bakteri *Lactobacillus* sp. yang diimobilisasi menggunakan alginat-zeolit

### 3.4 Pelaksanaan Penelitian

#### 3.4.1 Pembuatan Media Imobilisasi

##### 3.4.1.1 Pembuatan Media GYP

Media GYP *broth* dibuat dengan cara menambahkan 1 gram glukosa, 1 gram yeast, 0,5 gram peptone, 1gram CaCO<sub>3</sub>, 5 gram NaCl dan dilarutkan dalam 100 ml aquades. Penambahan 1,5 gram agar batang untuk pembuatan media GYP agar, kemudian dihomogenkan menggunakan *hot plate* dan disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121 °C selama 15 menit (dimodifikasi dari Rizqiati, 2009).

##### 3.4.1.2 Pembuatan Larutan Pengeras CaCl<sub>2</sub>

Larutan CaCl<sub>2</sub> 0,1 M diperlukan untuk mengeraskan kapsul. Sebanyak 14,7 g kristal CaCl<sub>2</sub> dilarutkan dalam 1000 ml akuades dalam beaker glass, kemudian dihomogenkan. Setelah homogen larutan disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121 °C selama 15 menit (Junaidi, 2018).

### 3.4.1.3 Pembuatan Larutan Natrium Sitrat

Larutan natrium sitrat diperlukan untuk melarutkan kapsul. Sebanyak 1 gram natrium sitrat ( $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$ ) dilarutkan dalam 100 ml akuades dalam *beaker glass*, kemudian dihomogenkan. Setelah homogen larutan disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121 °C selama 15 menit (Hassanzadeh *et al.*, 2017).

### 3.4.1.4 Pembuatan Suspensi Bakteri

Sebanyak 1 ose biakan bakteri probiotik dari glukosa 1%, yeast 1%, dan pepton 0,5% +  $\text{CaCO}_3$  1% + NaCl 5% (GYP) agar, diinokulasi pada 10 ml GYP *broth* dan diinkubasi pada suhu ruang selama 24 jam. Hasil biakan bakteri dipindahkan ke dalam 100 ml GYP *broth* dan diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam untuk memperbanyak sel bakteri. Penghitungan populasi sel dilakukan pada suspensi bakteri tersebut (dimodifikasi dari Yulinery, 2012 dan Junaidi, 2018).

## 3.4.2 Imobilisasi *Lactobacillus*

### 3.4.2.1 Imobilisasi *Lactobacillus* dengan Alginat

Imobilisasi *Lactobacillus* sp. dengan alginat dilakukan dengan cara membuat kapsul bakteri mengikuti metode Mawaddana (2015) yang dimodifikasi sebanyak 2 gram bubuk alginat dituangkan ke dalam 100 ml aquades kemudian diautoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Setelah larutan alginat dingin ditambahkan 10 ml suspensi bakteri. Selanjutnya larutan alginat yang telah mengandung bakteri dimasukkan ke dalam spuit (jarum suntik) 23 G x 1 ¼ lalu diteteskan ke dalam larutan  $\text{CaCl}_2$  0,1 M dengan teknik ekstrusi dan didiamkan selama 30 menit hingga terbentuk kapsul yang padat. Kapsul yang terbentuk dipindahkan ke dalam akuades steril sambil diaduk secara perlahan menggunakan *shaker* selama satu jam untuk menghilangkan residu  $\text{CaCl}_2$ . Kapsul disaring dengan kertas saring dan dipindahkan ke dalam cawan petri.

### 3.4.2.2 Imobilisasi *Lactobacillus* dengan Zeolit

Imobilisasi bakteri dengan bahan dasar zeolit dilakukan dengan menyiapkan 2% (v / w) bubuk zeolit dan diautoklaf pada 121 °C selama 15 menit. Setelah suspensi dingin

ditambahkan probiotik 10 ml, kemudian dihomogenkan selama 30 menit dan diinkubasi pada suhu ruang dalam *shaking shaker* (modifikasi Hassanzadeh *et al.*, 2017).

### **3.4.2.3 Imobilisasi *Lactobacillus* dengan Alginat-Zeolit**

Imobilisasi *Lactobacillus* sp. dengan matriks kombinasi alginat-zeolit dilakukan dengan membentuk kapsul berbahan inti *Lactobacillus* sp. mengikuti metode Hassanzadeh *et al.* (2017) yang dimodifikasi. Probiotik sebagai inti kapsul adalah bakteri yang diadsorpsi dengan zeolit. Kapsul dibentuk dengan cara menuangkan 2 gram bubuk alginat ke dalam 80 ml aquades dan diautoklaf selama 15 menit. Bakteri yang sudah diimobilisasi dengan zeolit dicampur dengan alginat. Suspensi yang telah mengandung bakteri kemudian dimasukkan ke dalam spuit (jarum suntik) berukuran 23 G x 1 ¼ lalu diteteskan ke dalam larutan CaCl<sub>2</sub> 0,1 M dengan teknik ekstrusi dan didiamkan selama 30 menit hingga terbentuk kapsul yang padat. Kapsul yang terbentuk dipindahkan ke dalam akuades steril sambil diaduk secara perlahan menggunakan shaker selama 1 jam untuk menghilangkan residu CaCl<sub>2</sub>. Kapsul disaring dan dipindahkan ke dalam cawan petri.

## **3.4.3 Uji Viabilitas *Lactobacillus* Terimobilisasi**

### **3.4.3.1 Uji Viabilitas dalam Cairan Simulasi Lambung**

Cairan simulasi lambung mengandung 0,08 M HCl dibuat dengan melarutkan 0,3 ml HCl ke dalam 50 ml aquades, dan 0,2 % NaCl dan pH larutan mencapai 2. Sebanyak 1 g kapsul bakteri dicampur dengan 50 ml larutan simulasi cairan lambung steril kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 180 menit dalam *shaking shaker*. Setelah diinkubasi, kapsul dicuci dengan larutan NaCl 0,9% steril. Kemudian dilakukan perhitungan sel bakteri kembali untuk melihat viabilitasnya (Mokarram *et al.*, 2009).

### **3.4.3.2 Uji Viabilitas dalam Kondisi Cairan Garam Empedu**

Uji viabilitas *Lactobacillus* sp. terimobilisasi dalam lingkungan simulasi garam empedu dilakukan dengan cara 0,5% *oxbile* ditambahkan ke media (GYP) kemudian

disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121 °C selama 15 menit. Setelah dingin ke dalam larutan tersebut ditambahkan 1 gram kapsul bakteri lalu diinkubasi selama 180 menit pada *shaking shaker*. Setelah diinkubasi, kapsul dicuci dengan larutan NaCl 0,9% steril. Kemudian dilakukan perhitungan sel bakteri kembali untuk melihat viabilitasnya (modifikasi dari Djide dan Wahyuddin 2008).

### 3.4.3.3 Uji Viabilitas pada Salinitas yang Tinggi

Uji viabilitas *Lactobacillus* sp. terimobilisasi terhadap salinitas 10% dilakukan dengan cara NaCl 10% ditambahkan ke dalam media GYP kemudian disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Setelah dingin ke dalam larutan tersebut ditambahkan 1 gram kapsul bakteri lalu diinkubasi selama 180 menit pada *shaking shaker*. Setelah diinkubasi, kapsul dicuci dengan larutan NaCl 0,9% steril. Kemudian dilakukan perhitungan sel bakteri kembali untuk melihat viabilitasnya (modifikasi dari Maligan *et al.*, 2006).

## 3.4.4 Perhitungan Sel Bakteri dan Analisis

### 3.4.4.1 Perhitungan Suspensi Bakteri

Perhitungan jumlah sel pada suspensi bakteri dilakukan dengan cara pengenceran. Sebanyak 0,5 ml suspensi bakteri dimasukkan ke dalam tabung reaksi berisi 4,5 ml NaCl 0,9% steril dan dihomogenkan. Sebanyak 0,5 ml suspensi yang telah diencerkan diteteskan ke dalam cawan petri steril secara aseptis. Media GYP agar hangat (40-50°C) dituang ke dalam cawan yang telah berisi suspensi bakteri. Cawan digoyang membentuk angka 8 secara perlahan hingga suspensi homogen. Setelah media memadat, cawan diinkubasi dengan posisi terbalik selama 24 jam pada suhu ruang. Koloni yang tumbuh kemudian dihitung jumlah selnya dengan rumus yang diadopsi dari Utami *et al.* (2018) sebagai berikut:

$$cfu/ml = \frac{jk}{fp \times vs}$$

Keterangan:

*Jk*= jumlah koloni

*fp*= faktor pengenceran

*vs*= volume yang disebar

### 3.4.4.2 Perhitungan Sel *Lactobacillus* Terimobilisasi

Perhitungan sel *Lactobacillus* sp. yang telah diimobilisasi dilakukan dengan cara memasukkan 1 g kapsul bakteri ke dalam 99 ml natrium sitrat steril 1% (v / b) dengan pH = 6 kemudian diaduk selama 10 menit. Suspensi yang terbentuk didiamkan selama 30 menit pada suhu ruang. Perhitungan sel bakteri yang diimobilisasi dilakukan dengan metode *Total Plate Count* (TPC) yang dimodifikasi (Mawaddana, 2015). Sebanyak 0,5 ml suspensi yang telah diencerkan dimasukkan ke dalam cawan petri steril secara aseptis. Media GYP agar hangat (40-50°C) dituang ke dalam cawan yang telah berisi suspensi bakteri. Cawan digoyang membentuk angka 8 secara perlahan hingga suspensi homogen. Setelah media memadat cawan diinkubasi dengan posisi terbalik selama 24 jam pada suhu ruang. Koloni yang tumbuh kemudian dihitung dengan rumus yang diadopsi dari Utami *et al.* (2018) sebagai berikut:

$$cfu/ml = \frac{jk}{fp \times vs}$$

Keterangan:

*Jk*= jumlah koloni  
*fp*= faktor pengenceran  
*vs*= volume yang disebar

### 3.4.4.3 Analisis Morfologi Kapsul *Lactobacillus*

Analisis morfologi kapsul *Lactobacillus* sp. dilakukan terhadap data hasil pengamatan bentuk, warna dan ukuran. Bentuk dan warna kapsul dapat dilihat secara langsung, sementara ukuran kapsul dapat diukur menggunakan mikrometer (modifikasi Junaidi, 2018). Kalibrasi mikrometer okuler diperoleh dari rumus yang diadopsi dari Sumitro *et al.* (2014) sebagai berikut:

$$a = \frac{b}{c} \times 10\mu m$$

Keterangan:

*a*= Skala mikrometer okuler  
*b*= Jumlah skala mikrometer objektif  
*c*= Jumlah skala mikrometer okuler

### **3.4.5 Analisis Statistik**

Data hasil penelitian yang diperoleh dianalisis varian (ANOVA) dengan  $\alpha= 0,05$ .

Apabila ada perbedaan pada perlakuan, dilanjutkan uji perbandingan Duncan (DMRT) untuk melihat perbedaan perlakuan.



## V. KESIMPULAN

### 5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil pembahasan, maka dapat disimpulkan bahwa:

1. *Lactobacillus* sp. terimobilisasi dengan menggunakan kombinasi matriks alginat-zeolit berbentuk bulat, berwarna putih keruh, dan berukuran diameter 2,5 mm
2. *Lactobacillus* sp. terimobilisasi menggunakan kombinasi matriks alginat-zeolit mampu mempertahankan viabilitas pada kondisi simulasi cairan asam lambung dan salinitas 10%

### 5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian, peneliti dapat menyarankan untuk selanjutnya perlu dilakukan kajian untuk mengetahui:

1. penggunaan bahan atau matriks lain sebagai bahan untuk membuat kapsul probiotik
2. pengujian viabilitas hasil penelitian ini secara *in vivo*.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abaeva, M., Y., Evstatieva, V., Savov, S. Llieva, dan Nikolova. 2015. Zeolit as Potential Matrices for Immobilization of *Aspergillus oryzae* pp. *Journal of Biotechnology* . 100 (4): 14-20.
- Anastiawan. 2014. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Probiotik yang Berasal dari Usus Itik Pedaging *Anas domesticus*. *Skripsi*: Universitas Hasanudin Makassar. Makassar
- Andrianto, A. 2011. Enkapsulasi *Lactobacillus casei* dengan Teknik Ekstrusi Sebagai Starter untuk Pembuatan Dadih Susu Sapi. *Skripsi*. IPB. Bogor.
- Arasu, M.,V., Al-Dhabi, N., A., Ilavenil, S., Choi, K., C., dan Srigopalram, S. 2015. In vitro importance of probiotic *Lactobacillus plantarum* related to medical field. *Saudi Journal of Biological Sciences* 23: 6–10.
- Arief, M., Fitriani, N. dan Subekti, S. 2017. Pengaruh Pemberian Probiotik Berbeda pada Pakan Komersial Terhadap Pertumbuhan dan Efisiensi Pakan Ikan Lele Sangkuriang (*Clarias sp.*). *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan* 6 (1): 49-53.
- Arif, F.B., Sugiyartono, dan Isnaeni. 2018. Pengaruh Konsentrasi HPMC K100lv terhadap Karakter Fisik dan Viabilitas *Lactobacillus* Spp. Pada Sediaan Mikropartikel Susu Fermentasi Probiotik. *Jurnal Pharmascientia*. 3(2): 22-31.
- Astuti, Widi. 2018. *Adsorpsi Menggunakan Material Berbasis Lignoselulosa*. UNNES PRESS. Semarang
- Atikah, Wulan, S. 2017. Potensi Zeolit Alam Gunung Kidul Teraktivasi Sebagai Media Adsorben Pewarna Tekstil. *Jurnal Arena Tekstil*. 32 (01): 17-24.
- Bayat, Z., Hassanshahian, M., dan Cappello, S. 2015. Immobilization of Microbes for Bioremediation of Crude Oil Polluted Environments: A Mini Review. *The Open Microbiology Journal*. 9: 48–54.
- Bouabidi, Z. B., El-Naas, M. H., dan Zhang, Z. 2019. Immobilization of microbial cells for the biotreatment of wastewater: A review. *Environmental Chemistry journal*. 17 (1): 241–257.

- Burgain, C., Gaiani, C., Linder, M., dan Scher, J. 2011. Enkapsulasi dari sel hidup probiotik: Dari skala laboratorium hingga aplikasi industri. *J. Makanan Eng.* 104: 467-483.
- Castilla, O.S., Calleros C.L., Galindo H., S., G., Ramirez, J.A. dan Carter. 2010. Textural properties of alginate-pectin MLN and survivability of entrapped Lb. Casei in simulated gastrointestinal condition and in yoghurt. *Food Research International.* 43(1): 111-117.
- De Vos, P., Faas, M.M., Spasojevic, M., and Sikkema, J. 2010. Encapsulation for preservation of functionality and targeted delivery of bioactive food components. *International Dairy Journal*, 20(4): 292–302.
- Djide, M.N. dan Wahyuddin, E. (2008). Isolasi Bakteri Asam Laktat dan Air Susu Ibu dan Potensinya dalam Penurunan Kadar Kolesterol Secara In Vivo. *Jurnal Farmasi dan Farmakologi* 12 (3): 73-78.
- Eleftheriadou, D., Evans, R., E., Atkinson, E., Abdalla, A., Gavins, F., K., H., Boyd, A., S., Williams, G., R., Knowles, J., C., Robertson, V., H., dan Phillips, J., B. 2022. An alginate-based encapsulation system for delivery of therapeutic cells to the CNS. *Royal Society of Chemistry.* 12: 4005-4015.
- Fajri, M., A., Adelina dan Aryani, N. 2015. *Penambahan Probiotik Dalam Pakan Terhadap Pertumbuhan dan Efisiensi Pakan Benih Ikan Baung (Hemibagrus nemurus)*. Universitas Riau. Riau.
- Fitriyah, 2016. Interkalasi Xilenol Orange Pada Zeolit Alam Lampung Sebagai Elektroda Zeolit Termodifikasi. *Jurnal Kimia dan Pendidikan.* 1(02): 162-175.
- Florenza, Silvy. 2014. Pengaruh Penambahan Isomalt dan Lama Penyimpanan Terhadap Ketahanan *Lactobacillus Acidophilus* Fnc 0051 Terimobil dalam Gel Alginat pada Asam Lambung dan Garam Empedu Secara In Vitro. *Skripsi.* Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya. Surabaya.
- Gatlin, II. D.M. and Peredo, A.M. 2012. Prebiotics and probiotics: *Definitions and applications.* Southern Regional Aquaculture Center (SRAC), Publication No. 4711: 1-8. Texas A & M University.
- Handayani, Wiwik. 2013. *Sintesis Human Milk Fat Substitute (HMFS) dengan Katalis Lipase Rhizomucor miehei Diimobilisasi Menggunakan Metode Entrapment dengan Support Kalsium Alginat.* Tesis. Universitas Indonesia. Depok.
- Hardiyana, S., Rahardja, B., S., dan Mashitah, E., D. 2020. Provision Study of *Lactobacillus* spp. and Barley Straw Against Dynamics of DO, pH and Plankton Abundance. *Journal of Marine and Coastal Science.* 9 (1): 41-47.

- Harjuni, F., Nursyirwani, dan Mulyadi, A. 2016. Tolerance of Probiotic Bacterial Candidate from Kakap Putih on pH And Bile Salt. *Faculty of Fisheries and Marine Sciences, Riau University, Pekanbaru*: 1-10.
- Hassanzadeh, A.M., Khiabani, M.S., Sadrnia, M., Divband, B., Rahmanpour, O., Jabbari, V., Gholizadeh, P., dan Kafil, H.S. 2017. Immobilization and microencapsulation of *Lactobacillus caseii* and *Lactobacillus plantarum* using zeolite base and evaluating their viability in gastroesophageal-intes-tine simulated. *Ars Pharm*, 58 (4): 163-170.
- Herawati, Heny. 2018. Potensi Hidrokolloid Sebagai Bahan Tambahan pada Produk Pangan dan Nonpangan Bermutu. *Jurnal Litbang Pertanian*. 37(1): 17-25.
- Hermana, I, Kusmarwati, A., dan Indriati, N. 2015. Mikroenkapsulasi Strain Probiotik *Leuconostoc mesenteroides* Ssp. *Cremonis* Bn12 Menggunakan Berbagai Penyalut. *JPB Kelautan dan Perikanan*, 10 (2): 133–141.
- Junaidi, Muhammad. 2018. Uji Viabilitas Mikroenkapsulasi *Lactobacillus acidophilus* Menggunakan Polimer Natrium Alginat-Kitosan Terhadap Simulasi Cairan Asam Lambung. *Tesis*. Universitas Sumatera Utara. Medan.
- Junusmin, K.I., Manurung, B., S., dan Darmayati, Y. 2019. Bioremediation of Oil-Contaminated Sediment by Hydrocarbonoclastic Bacterial Consortium Immobilized in Different Types of Carrier. *In Proceedings of the 5th International Symposium on Applied Chemistry (ISAC)*, Tangerang, Indonesia.
- Kadir, I., R. 2016. Pertumbuhan Bakteri Asam Laktat (BAL) Kandidat Probiotik Asal Saluran Pencernaan Doc Broiler Terhadap Berbagai Kondisi Asam Lambung. *Skripsi*. Universitas Islam Negeri Alauddin. Makasar.
- Kailasapathy, K. 2002. Microencapsulation of Probiotic Bacteria: Technology and Potential Applications. *Current Issues in Intestinal*. 3: 39-48
- Krasaekoopt, W., Bhandari, W., dan Deeth, H. 2003. Evaluation of encapsulation techniques of probiotics for yoghurt. *Int. Dairy Journal*. 13:313.
- Las, T. dan Zamroni, H., 2002. Penggunaan Zeolit dalam Bidang Industri dan Lingkungan. *Jurnal Zeolit Indonesia*. 1 (01): 27-34.
- Lee, H., Jeong, D., Im, S., dan Jang, A. 2020. Optimization of alginate bead size immobilized with *Chlorella vulgaris* and *Chlamydomonas reinhardtii* for nutrient removal. *Journal Bioresource Technology*. 302 (2020): 1-5.
- Madhubala. 2014. Encapsulation Of Probiotic Bacteria Isolated From Fermented Food (Koozh) By Spray Drying. *Thesis*. Anna University. Chennai. India.
- Maligan, J., M., Kusnadi, J., dan Murtini, E., S. 2006. Studi Viabilitas Bakteri Probiotik *Bifidobacterium bifidum*, *Lactobacillus acidophilus* dan *Lactobacillus*

*casei* Terimobilisasi pada Sistem Emulsi Air dalam Minyak Jagung dan Daya Tahannya pada Perlakuan Lanjutan. *Jurnal Teknologi Pertanian*. 7 (3): 141-149.

- Martins, S. C. S., Martins, C. M., Fiuza, L. M. C. G., dan Sandra, T. S. 2013. Immobilization of Microbial Cells: A Promising Tool for Treatment of Toxic Pollutants in Industrial Wastewater. *African Journal of Biotechnology*. 12 (28): 4412–4418.
- Mawwaddana, Qurry. 2015. Uji Viabilitas Mikroenkapsulasi *Lactobacillus casei* Menggunakan Matrik Natrium Alginat. *Skripsi*. Universitas Islam Syarif Hidayatullah. Jakarta.
- Mellyanawaty, M., Purnomo, C., W., dan Budijhanto, W. 2017. Pengaruh Penambahan Zeolit Alam Termodifikasi sebagai Media Imobilisasi Bakteri terhadap Dekomposisi Material Organik secara Anaerob. *Jurnal Rekayasa Proses*. 11 (1): 36-42.
- Moghaddam, S., A., E., Harun, R., Mokhtar, M., N., Zakaria, R. 2019. Stability improvement of algal-alginate beads by zeolite molecular sieves 13X. *International Journal of Biological Macromolecules*. 132 (2019): 592-599.
- Mokarrom, R., R., Mortazavi, S., A., Najafi, M., B., H., dan Shahidi. 2009. The influence of multi stage alginate coating on survivability of potential probiotic bacteria in simulated gastric and intestinal juice. *Food Research International* 42: 1040–1045.
- Monedero, V., G.P. Martines, and M. Yebra. 2010. Perspectives of Engineering Lactic Acid Bacteria for Biotechnological Polyol Production. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 86: 1003–1015.
- Muhardina, V., Ermaya, D., AIsyah, Y., dan HARYANI S. 2017. Pengaruh Karagenan, Alginat dan Ampas Tahu Prebiotik Terhadap Visualisasi Fisik dan Rendemen Kapsul Probiotik. *Seminar Nasional Kemaritiman Aceh*. 1: 513-517.
- Nanasombat, S., Phunpruch, S., Sriwong, N., Jaichalad, T., Onnom, W., dan Odthon, S. 2008. Characterization of the Antibacterial Activity and Probiotic Properties of Lactic Acid Bacteria Isolated from Raw Fish and Nham-Plaa. *Kasetsart Journal - Natural Science*. 42 : 747 – 757.
- Oh, S., S., Kim, H., dan Worobo, R., W. 2000. Characterization and Purification of a Bacteriocin Produced by a Potential Probiotic Culture, *L. acidophilus* 30 SC. *Journal Dairy Science*. 83:2747-2754.
- Prastyo, Agung. 2017. Viabilitas dan Kemampuan Bakteri Penghasil Biosurfaktan Terimobilisasi dalam Mendegradasi Pestisida Berbahan Aktif Karbofuran. *Skripsi*. Universitas Sumatera Utara. Medan.

- Primashita, A., H., Rahardja, B., S., dan Prayogo. 2017. Pengaruh Pemberian Probiotik Berbeda dalam Sistem Akuaponik terhadap Laju Pertumbuhan dan Survival Rate Ikan Lele (*Clarias sp.*). *Journal of Aquaculture Science* 1 (1) : 1 – 9.
- Pullin, R., S., V., dan Lowe-McConnell, R., H., 1982. The Biology and Culture of Tilapias. ICLARM Conference Proceedings 7,432 p. *International Center for Living Aquatic Resources Management*. Manila. Philippines.
- Purnasari, N., Laksmi, B., S., dan Nuraida, L. 2012. Karakterisasi Mikrokapsul *Lactobacillus plantarum* dan Stabilitasnya dalam Produk Selai Salak. *Jurnal Teknologi dan Industri*. 26 (1): 90-99.
- Puspadewi, R., Adirestuti, P., dan Angraeni, G. 2011. Aktivitas Metabolit Bakteri *Lactobacillus plantarum* dan Perannya dalam Menjaga Kesehatan Saluran Pencernaan. *Review Konferensi Nasional Sains dan Aplikasinya*.
- Puspitaningsih, Rr. E. 2015. *Pengaruh Probiotik terhadap Kualitas Telur Ayam Petelur (Layer)*. Tesis. Universitas Lampung. Lampung.
- Putra, R., N. dan Lee Y., H. 2019. Entrapment of micro-sized zeolites in porous hydrogels: Strategy to overcome drawbacks of zeolite particles and beads for adsorption of ammonium ions. *Journal Separation and Purification Technology*.
- Rahmawati, H., Dwi. 2017. Pengaruh Pemberian Probiotik dengan Carrier Zeolit terhadap Kepadatan dan Jenis Bakteri pada Usus Ikan Koi (*Cyprinus carpio*). *Universitas Brawijaya*. Malang.
- Rambe, N., A., dan Linda, T., M., 2019. *Uji Kemampuan Tumbuh Bacillus sp. Menggunakan Teknik Imobilisasi dengan Beberapa Variasi Carrier untuk Mendegradasi Minyak Bumi*. Universitas Riau. Riau.
- Ramadani, M., Linda, R., dan Mukarlina. 2013. Penggunaan Larutan Kalsium Klorida (CaCl<sub>2</sub>) dalam Menunda Pematangan Buah Pepaya (*Carica papaya L.*). *Jurnal Protobiont*. 2 (3): 161-166.
- Rizqiati, H., Jenie, B.S., Nurhidayat, N., dan Nurwitri, C.C. (2009). Karakteristik Mikrokapsul Probiotik *Lactobacillus plantarum* yang Terenkapsulasi dengan Susu Skim dan Gum Arab. *Jurnal Indon.Trop.Anim.Agric*. 34(2): 141.
- Rokka, S. dan Rantamaki, P. 2010. Protecting Probiotic Bacteria by Microencapsulation: Challenges for Industrial Applications. *European Food Research and Technology Journal*. 231:1-12.
- Rozzak, Abdul. 2002. Pengaruh Salinitas Terhadap Biodegradasi Cemar Zat Organik. *Jurnal Oceana*. 27 (03): 29-35.
- Salisu, A., Batagarawa, S., M., Barde, M., I., Musa, A., Musa, A., Mohammed, Usman, A., Kankara, S., S., dan Ahmed, A. 2016. Alginate Encapsulated

Mesoporous Zeolite Beads For The Removal Of Methylene Blue From Aqueous Solution. *Katsina Journal of Natural and Applied Sciences*. 5 (2): 77-86.

Sana Siva Sankar dan Boya Vijaya Kumar Nadu. 2018. Sodium Alginate-Zeolite Composite Gel Beads for Controlled Release Of 5-Fluorouracil. *Journal of Global Trends in Pharmaceutical Sciences*. 9 (1): 4728-4740.

Sandoval-Castilla O., Lobato-Calleros, C., García-Galindo, H., S., Alvarez-Ramírez J, Vernon-Carter, E., J. 2010. Textural properties of alginate-pectin beads and survivability of entrapped *Lb. casei* in simulated gastrointestinal conditions and in yoghurt. 43(1): 111-117.

Sari, N., A., Fauziah, R., N., dan Nurbaety A., T. 2009. *Pengaruh Suhu dan Salinitas terhadap Viabilitas Bakteri Aeromonas hydrophila dan Bacillus sp.* Institut Pertanian Bogor. Bogor.

Saselah, J., T. dan Mandeno, J. 2017. Aplikasi probiotik dengan bahan lokal untuk meningkatkan pertumbuhan dan tingkat kelangsungan hidup Bawal air tawar (*Colossoma macropomum*). *Jurnal Budidaya Perairan* 5 (3): 50 – 56.

Septiani, U. dan Lisma, A. 2011. Pemanfaatan Zeolit Alam Sebagai Media Pendukung Amobilisasi Enzim  $\alpha$  –Amilase. *Jurnal Riset Kimia*. 5(1): 79-88.

Serna-cock, L., dan Vallejo-calello, V. 2013. Probiotic encapsulation, *Global Journal of Medical Microbiology*, 7(40): 4744-4751.

Setiarto, R., H., B., Kusumaningrum, H., D., Jenie, B., S., L., dan Khusniati, T., 2018. Pengembangan Teknologi Mikroenkapsulasi Bakteri Probiotik dan Manfaatnya untuk Kesehatan. *Jurnal Veteriner*. 19 (04): 1-17.

Solanki, H.K., Pawar, D. D., Shah, S. A., Prajapati, V.D., Jani, G.K. and Mulla, A.M. (2013). Development of Microencapsulation Delivery System for Long term Preservation of probiotics as Biotherapeutics Agent. *Hindawi Publishing Corporation BioMed Research International*. 2013 (1-21).

Suardana, I.W., dan Sukada, I.M. 2015. Uji Potensi Probiotik Bakteri Asam Laktat Isolat 3b Hasil Isolasi dari Kolon Sapi Bali. *Seminar Nasional Sains dan Teknologi*. 1264-1270.

Subaryono. 2010. Modifikasi Alginat dan Pemanfaatan Produknya. *Balai Besar Riset Pengolahan Produk dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan*. 5(1): 1-7.

Sumitro, S., B., Fatchiyah, Widodo, Rifai'I, M., Rahayau, S., Suharjono, Arisoelaningsih, E., Arumingtyas, E., L., Indriyani, S., dan Mastuti, R. 2014. Penuntun Praktikum Biologi Umum. Universitas Brawijaya. Malang.

- Sumule, J., F., Tobigo, D., T. dan Rusaini. 2017. Aplikasi Probiotik pada Media Pemeliharaan Terhadap Pertumbuhan dan Sintasan Ikan Nila Merah (*Oreochromis sp.*). *Jurnal Agrisains* 18 (1) : hal 1-12.
- Sunaryanto, R. dan Marwoto, B. 2012. Isolasi, Identifikasi, dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat dari Dadih Susu Kerbau. *Jurnal Sains dan Teknologi Indonesia* 14, (3): 228-233.
- Umniyati, S., Astuti, Oktavia, B., dan Pramiadi, D. 2009. Pengaruh Garam Empedu Terhadap Pertumbuhan dan Produksi Asam Laktat *Streptococcus* sp dari Cyme Usus Halus Ayam Broiler Strain Lohman. *Prosiding Seminar Nasional Penelitian, Pendidikan dan Penerapan MIPA*: 166-181.
- Utami, U., Harianiek, L, Kusmiyati, N., dan Fitriyanti, P.D. 2018. *Buku Panduan Praktikum Mikrobiologi Umum*. Universitas Maulana Malik Ibrahim. Malang.
- Wardika, A., S., Suminto dan Sudaryono, A. 2014. Pengaruh Bakteri Probiotik pada Pakan dengan Dosis Berbeda Terhadap Efisiensi Pemanfaatan Pakan, Pertumbuhan dan Kelulushidupan Lele Dumbo (*Clarias Gariepinus*). *Journal of Aquaculture Management and Technology* 3(4): 9-17.
- Wijayanti, Arlin. 2020. Immobilisasi dengan Menggunakan Natrium Alginat *Padina* sp. untuk Meningkatkan Aktivitas Bakteri *Bacillus coagulans* dalam Mendegradasi Total Ammonia Nitrogen (TAN). *Tesis*. Universitas Lampung. Lampung.
- Wulandari, R., Indriana, D., dan Amalia, A., N. 2019. Kajian Penggunaan Hidrokoloid Sebagai Emulsifier pada Proses Pengolahan Cokelat. *Jurnal Industri Hasil Perkebunan*. 14 (1): 28-40.
- Yogeswara, I., B., A. Kusumawati, I, G., A., W., Nursini, N. W. 2014. Viabilitas dan Stabilitas Bakteri Probiotik *L. acidophilus* FNCC 0051 pada Susu Kedelai Fermentasi Selama di Saluran Cerna In Vitro dan Penyimpanan. *Seminar Nasional FMIPA Undiksha*. 360-367.
- Yulinery, T. dan Nurhidayat, N. 2012. Analisis Viabilitas Probiotik *Lactobacillus* Terenkapsulasi dalam Penyalut Dekstrin dan Jus Markisa (*Passiflora edulis*). *Jurnal Teknologi Lingkungan*. 13 (1): 109-121.
- Zuidam, N. dan Nedovic V., 2010. *Encapsulation Technologies for Active Food Ingredients and Food Processing*.