

Pengaruh Matriks Kombinasi Alginat:Gelatin (2%:1%) terhadap Karakteristik dan Aktivitas Antibakteri Mikrosfer Probiotik *Lactobacillus acidophilus*

Tutie Purwanti*, Ria Puspita, Tristiana Erawati
Departemen Farmasetika, Fakultas Farmasi, Universitas Airlangga, Surabaya

*Corresponding author: tutiek_purwanti@yahoo.com

Submitted: 17 Mei 2019

Accepted: 8 Juli 2019

Published online: 31 Juli 2019

Abstract

Background: *Microspheres* is one of the drug delivery systems that can be use for oral or topical delivery. The effectiveness of the microspheres as the drug delivery system is influenced by the polymer matrix component. **Objective:** The purpose of this study was to determine the effect of combination matrix sodium alginate:gelatin (2%:1%) on the characteristics of probiotic microspheres such as size, entrapment efficiency, and this antibacterial activity. **Methods:** The microspheres were made by different matrix using combination matrix sodium alginate:gelatin (2%:1%) (F-I), probiotic microspheres with 3% sodium alginate matrix (F-II) and probiotic microspheres with 3% gelatin matrix (F-III). The probiotic microspheres are made by extrusion technique, and dried using an oven. **Results:** The average particle size of F-I, F-II, and F-III were 8.03 μm , 9.69 μm , and 5.40 μm , respectively. The entrapment efficiency of F-I, F-II, and F-III were 77.48%, 84.20% and 87.93% respectively, while the antibacterial activity obtained inhibitory zone diameter of F-I, F-II, and F-III were 11.72 ± 0.58 mm, 9.8 ± 0.57 mm, and 9.27 ± 0.19 mm, respectively. The results of statistical test using the ANOVA method and followed by the HSD test were known that there were significant differences between F-I, F-II, F-III. **Conclusion:** It can be concluded that the probiotic microsphere F-I has a smaller size than F-I and greater than F-III. Probiotic microsphere F-I have the lowest entrapment efficiency, but have the greatest antibacterial activity compared to probiotic microsphere F-II and F-III.

Keywords: *microsphere, extrusion, sodium alginate, gelatin, probiotic Lactobacillus acidophilus*

Abstrak

Pendahuluan: Mikrosfer adalah salah satu sistem penghantaran obat yang dapat digunakan untuk menghantarkan obat pada pemakaian secara oral maupun topikal. Efektivitas mikrosfer sebagai sistem penghantar obat antara lain dipengaruhi oleh polimer penyusun matriknya. **Tujuan:** Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui pengaruh matrik natrium alginat 2% : gelatin 1% terhadap karakteristik mikrosfer probiotik yaitu ukuran, efisiensi penjebakan, dan aktivitas antibakteri yaitu diameter zona hambatnya. **Metode:** Dibuat mikrosfer probiotik dengan matriks berbeda yaitu kombinasi alginat:gelatin (2%:1%) (F-I), matriks alginat 3% (F-II) dan matriks gelatin 3% (F-III). Mikrosfer probiotik dibuat dengan teknik ekstrusi dan dikeringkan menggunakan oven. **Hasil:** Hasil pemeriksaan karakteristik menunjukkan bahwa rerata ukuran partikel F-I, F-II, dan F-III berturut-turut adalah 8,03 μm , 9,69 μm , dan 5,40 μm . Efisiensi penjebakan F-I, F-II, dan F-III berturut-turut adalah 77,48 %, 84,20 %, dan 87,93 %. Sedangkan hasil uji aktivitas antibakteri, diperoleh diameter zona hambat F-I, F-II, dan F-III berturut-turut adalah $11,72 \pm 0,58$ mm , $9,8 \pm 0,57$ mm, dan $9,27, \pm 0,19$ mm. Hasil uji statistik dengan metode ANOVA yang dilanjutkan uji HSD menunjukkan adanya perbedaan signifikan pada ukuran, efisiensi penjebakan maupun diameter zona hambat antara mikrosfer probiotik F-I, F-II, F-III. **Kesimpulan:** Disimpulkan bahwa mikrosfer probiotik F-I dengan matriks kombinasi alginat:gelatin (2%:1%) memiliki ukuran yang lebih kecil dari F-I (matriks alginat 3%) dan lebih besar dari F-III (matriks gelatin 3%).

Mikrosfer probiotik F-I memiliki harga efisiensi penjebakan paling rendah, tetapi memiliki aktivitas antibakteri paling besar dibandingkan dengan mikrosfer probiotik F-II dan F-III.

Kata kunci: mikrosfer, ekstrusi, natrium alginat, gelatin, probiotik *Lactobacillus acidophilus*

PENDAHULUAN

Probiotik (*Lactobacillus acidophilus*) dalam jumlah tertentu, yaitu $\geq 10^7$ cfu/g dapat memberikan efek terapi bagi kesehatan, khususnya saluran pencernaan (Halász, 2009; Flourou-Paneri dkk., 2013). Beberapa penelitian yang telah dilakukan juga menunjukkan bahwa *Lactobacillus acidophilus* dapat menghambat pertumbuhan bakteri penyebab infeksi kulit (Šuškić dkk., 2010; Lew & Liong, 2013). Hal ini disebabkan karena kandungan metabolit dari *Lactobacillus acidophilus* yaitu bakteriosin dapat bersifat sebagai antibakteri. Sehingga probiotik ini sangat potensial dikembangkan untuk penggunaan topikal untuk mengatasi *acne*, *aging*, *rosaceae*, dermatitis, inflamasi kulit dan infeksi bakteri (Lannitti & Palmieri, 2010; Inostroza dkk., 2012).

Permasalahannya adalah probiotik ini tidak stabil terhadap faktor suhu, kelembaban, pH, dan stres (Jood dkk., 2012). Sehingga untuk menjaga stabilitas dan memperpanjang efek farmakologi yang ditimbulkan, melalui pola pelepasan diperlambat diperlukan sistem penghantaran yang sesuai yaitu mikrosfer (Burgain dkk., 2011; Agnihotri dkk., 2012; Solanki dkk., 2013). Mikrosfer dibuat dengan cara mengenkapsulasi probiotik menggunakan matriks kombinasi natrium alginat-gelatin dengan penyambung silang larutan CaCl_2 . Dipilih metode ekstrusi, karena memiliki beberapa kelebihan yaitu sederhana, murah, mudah dilakukan, serta tidak menyebabkan kerusakan probiotik, karena tidak memerlukan suhu tinggi maupun pelarut organik (Manjanna dkk., 2010; Sahil dkk., 2011).

Karakteristik mikrosfer probiotik, dalam hal ini ukuran, efisiensi penjebakan dan aktivitas antibakteri dipengaruhi oleh jenis dan konsentrasi matriks, konsentrasi *cross linker*, pH saat pencampuran larutan matriks dan suspensi probiotik sebelum proses ekstrusi. Dalam proses mikroenkapsulasi dibutuhkan suatu matriks yang biasanya berupa polimer (Saijala dkk., 2011). Natrium alginat merupakan polimer alam yang banyak digunakan dalam proses mikroenkapsulasi karena sifatnya yang biokompatibel, biodegradabel, larut dalam air, tidak toksik dan relatif murah. Natrium alginat dapat membentuk gel dengan kation bervalensi dua antara lain ion Ca^{2+} , sehingga pada penelitian ini

digunakan larutan CaCl_2 sebagai bahan penyambung silang. Selain keuntungan yang telah disebutkan, ternyata alginat memiliki kekurangan yaitu mikrosfer yang dihasilkan terlalu porus, sehingga kurang optimal dalam melindungi probiotik dari faktor lingkungan. Struktur yang porus tersebut juga akan mengakibatkan kemampuan menjebak probiotik rendah (Chávarri dkk., 2012). Oleh karena itu diperlukan polimer lain untuk meminimalkan kekurangan tersebut. Gelatin merupakan polimer yang bersifat biodegradabel, biokompatibel, stabil pada rentang pH yang luas, murah, memiliki daya pengembangan yang baik, dan bisa mengalami sambung silang seperti natrium alginat (GMIA, 2012; Elzoghby, 2013).

Karena sifat amfoternya, gelatin dapat dikombinasikan dengan polisakarida anionik seperti natrium alginat (Li dkk., 2009). Selain itu kombinasi natrium alginat dan gelatin sebagai matriks akan mengurangi porositas, karena matriks yang terbentuk lebih kompak, sehingga ukuran partikel lebih kecil dan kemampuan menjebak lebih besar (Li dkk., 2009).

Dalam penelitian ini, dibuat tiga macam mikrosfer probiotik yaitu F-I dengan matriks kombinasi natrium alginat:gelatin (2%:1%), F-II dengan matriks alginat 3% dan F-III dengan matriks gelatin 3%. Mikrosfer probiotik ekstrusi dikeringkan menggunakan oven dengan temperatur kurang dari 40°C . Selanjutnya dilakukan pemeriksaan ukuran partikel, efisiensi penjebakan dan aktivitas daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri uji *Staphylococcus aureus* dengan mengukur diameter zona hambatnya.

BAHAN DAN METODE

Bahan

Lactobacillus acidophilus dari Pusat Studi Pangan dan Gizi Universitas Gajah Mada, *Staphylococcus aureus*, gelatin tipe B (*Pharmaceutical Grade*), Natrium alginat (*Pharmaceutical Grade*), kalsium klorida (*Food Grade*), air suling steril, media *de Man Ragoza Shorpe* (MRS) Broth steril, *Natrium Klorida* (*Pro Analysis*), *Phosphate Buffer Salin* (PBS) steril, Agar AA (*Food Grade*) dan Media Nutrien Agar (NA) steril.

Alat

Plate Stirer (Dragon Lab MS pro), pH meter SCHOTT glass mainz tipe CG 842, spektrofotometer FTIR (Jasco FT-IR/5300), alat Ekstrusi, Mikroskop Optik, incubator (Memmert INB 500), *Colony counter*

(Suntex 570), Vortex (Labinco L46), Autoklaf (Huxley HL340), *Thermoshaker* (Gerhardl Labshake), Ultra sentrifugator Hermle Z36HK timbangan analitik, Oven, Cawan Petri, Ôse, pipet mikro, jangka sorong.

Tabel 1. Formula mikrosfer probiotik

Bahan	Fungsi	F-I	F-II	F-III
*suspensi Probiotik:				
<i>L. acidophilus</i>	Bahan Aktif	10 mL	10 mL	10 mL
Gelatin tipe B	Matriks	1,5 g (1%)	-	4,5 g (3%)
Natrium alginat	Matriks	3 g (2%)	4,5 g (3%)	-
Aquadest	Pelarut	140 mL	140 mL	140 mL
CaCl ₂ 1,5 M	<i>Cross linker</i>	300 mL	300 mL	300 mL

* suspensi probiotik diambil saat jumlah mikroba minimal $10^6 - 10^7$ cfu/mL

Keterangan:

F-I : Formula mikrosfer probiotik dengan matriks kombinasi natrium alginat:gelatin (2%:1%)

F-II : Formula mikrosfer probiotik dengan matriks natrium alginat 3% (sebagai kontrol)

F-III : Formula mikrosfer probiotik dengan matriks gelatin 3% (sebagai kontrol)

Pembuatan mikrosfer probiotik

Dibuat mikrosfer probiotik berbagai formula dengan matriks yang berbeda, sesuai komposisi yang tertera pada Tabel 1. Diukur probiotik 5 mL dari starter yang sudah memenuhi persyaratan. Disiapkan larutan natrium alginat dan gelatin dengan cara natrium alginat dan gelatin didispersikan ke dalam aquadest 140 mL sambil terus diaduk lalu disterilisasi pada suhu 121°C selama 20 menit. Selanjutnya masukkan suspensi probiotik ke dalam larutan natrium alginat-gelatin sambil diaduk sampai homogen, lakukan pemeriksaan jumlah koloni menggunakan metode Angka Lempeng Total (ALT) sebelum dilakukan proses ekstrusi. Siapkan larutan kalsium klorida 1,5 M 300 mL sebagai larutan penyambung silang. Disemprotkan campuran suspensi probiotik dan larutan polimer melalui *noozle* yang di bawahnya sudah ada media penampung yaitu larutan kalsium klorida 1,5 M. Ukuran diameter *noozle* 45 µm, jarak antara *noozle* dengan larutan kalsium klorida 8 cm dan tekanan kompresor 40 Psi. Dilakukan pengadukan selama 1 jam dengan kecepatan 1000 rpm. Mikrosfer yang terbentuk dipisahkan dari larutan CaCl₂ dengan cara disentrifugasi 2500 rpm selama 6 menit, lalu dicuci dengan air steril, sampai bebas CaCl₂. Dilakukan penyaringan dan mikrosfer probiotik yang diperoleh dikeringkan menggunakan oven pada suhu 40°C selama 30 jam (Poshadri & Kuna, 2010; Prasant dkk., 2011).

Penentuan ukuran partikel

Pengukuran ukuran partikel dilakukan menggunakan mikroskop optik yang dilengkapi dengan

micrometer okular dan obyektif (Martin, 2002) dengan sampel 300 partikel mikrosfer.

Uji efisiensi pengebakan

Uji efisiensi pengebakan dilakukan menggunakan metode Angka Lempeng Total (ALT). Uji efisiensi pengebakan dilakukan untuk melihat adanya pengaruh proses pembuatan mikrosfer terhadap viabilitas bakteri. Ditimbang 0,5 gram mikrosfer probiotik, kemudian didispersikan ke dalam 50 mL larutan PBS steril pada pH 7,4 dan di *shaker* selama 2 jam. Selanjutnya dilakukan pengenceran 10x, dan dilakukan plating pada media MRS agar. Kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam. Perhitungan jumlah koloni bakteri probiotik diekspresikan dengan menggunakan satuan *colony forming units* (cfu)/gram (Mokarram dkk., 2009). Efisiensi pengebakan merupakan perbandingan antara jumlah koloni sesudah dibuat mikrosfer dengan jumlah koloni sebelum dibuat mikrosfer dikalikan 100%.

Uji aktivitas antibakteri

Preparasi media uji

Bahan media nutrien agar (NA) sebanyak ± 23 gram dilarutkan didalam ± 1 liter air suling dan diaduk hingga homogen. Larutan dipanaskan dengan pemanasan perlahan, hingga mendidih selama satu sampai dua menit. Larutan yang sudah homogen dituang kedalam wadah dan disterilkan pada suhu 121°C selama 15 menit.

Bahan media *nutrien broth* (NB) sebanyak ± 8 gram dilarutkan kedalam ± 1 liter air suling dan diaduk

hingga homogen. Larutan dipanaskan dengan pemanasan perlahan hingga mendidih selama satu atau dua menit. Setelah homogen larutan dituang kedalam wadah dan disterilkan pada suhu 121°C selama 15 menit.

Penyiapan sampel

Ditimbang 200 miligram mikrosfer probiotik, dicampur dengan 10 mL larutan PBS 7,4 steril dan di *shaker* selama 2 jam.

Penyiapan inokulum bakteri

Sebanyak 1 kawat Öse biakan murni *S. aureus* dari stok biakan dimasukkan pada media NB. Kemudian tabung disimpan dalam inkubator suhu 37°C selama 24 jam. Sebanyak 5 mL larutan garam fisiologis (salin) ditambahkan ke dalam tabung, dikocok sampai seluruh biakan terlepas sehingga didapatkan $1,4 \times 10^8$ cfu. Biakan setara dengan absorbansi 0,885 diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 580 nm sampai diperoleh transmittansi 25% (Johnson & Levin, 2013).

Uji aktivitas daya hambat terhadap *Staphylococcus aureus*

Disiapkan 2 buah tabung reaksi yang masing-masing berisi media NA steril sebanyak 8 mL (*seed layer*) dan 10 mL (*base layer*). Media *base layer* dituangkan kedalam cawan petri steril, dibiarkan memadat. Masukkan 3 µm inokulum *S. aureus* kedalam tabung *seed layer* pada suhu 40 - 45°C, kemudian di vortex. Selanjutnya dituang secara merata pada permukaan *base layer* dalam cawan petri dan biarkan memadat. Dibuat lubang atau sumuran pada agar dengan pipa pencetak sesuai dengan ketentuan. Isi masing-masing lubang tersebut dengan 50 µL yaitu 1 (kontrol positif), 1 (kontrol negatif), 1 (suspensi probiotik), 3 (sampel F-I), 3 (sampel F-II), dan 3

(sampel F-III), kemudian cawan petri dibungkus kertas dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Diameter zona terang yang terbentuk diamati dan diukur menggunakan jangka sorong (milimeter). Sebagai kontrol positif digunakan antibiotik gentamisin sulfat, sedangkan kontrol negatif adalah semua bahan dalam formula selain suspensi probiotik. Pengujian dilakukan tiga kali replikasi untuk masing-masing sampel uji.

Analisa data

Pengolahan data karakteristik yaitu ukuran, efisiensi pengebakan dan aktifitas anti bakteri *L. acidophilus* dilakukan secara statistik dengan metode analisis varian *one way ANOVA*, yang dilanjutkan dengan uji *Honesty Significant Difference (HSD)* Tukey dengan derajat kepercayaan 0,95 ($\alpha = 0,05$).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Morfologi mikrosfer probiotik

Dari hasil pengamatan mikrosfer probiotik yang dilihat di bawah mikroskop optik perbesaran 400x terlihat mikrosfer yang sferis. Hal ini disebabkan karena pada proses pembuatan larutan polimer-probiotik disemprotkan melewati lubang/pori dengan ukuran tertentu, sehingga membentuk *droplet* cair yang sferis dan ketika mengalami pematatan akibat proses sambung silang menghasilkan mikrosfer yang sferis juga (Joshi dkk., 2012).

Distribusi ukuran mikrosfer probiotik

Hasil pengukuran mikrosfer probiotik menggunakan mikroskop dengan skala okuler 10 dan skala objektif 40. Digunakan 300 partikel pada setiap kali pengukuran. Hasil penentuan ukuran partikel diperoleh rerata ukuran mikrosfer probiotik seperti yang tercantum pada Tabel 2 berikut.

Tabel 2. Rerata ukuran mikrosfer probiotik

Mikrosfer Probiotik	Rata-rata Ukuran (µm)
F-I (Alginate:Gelatin (2%:1%))	8,03
F-II (Alginate 3%)	9,69
F-III (Gelatin 3%)	5,40

Rerata ukuran mikrosfer probiotik F-I, F-II, dan F-III berturut-turut adalah 8,03 µm, 9,69 µm, dan 5,40 µm. Ukuran partikel terkecil pada F-III yaitu mikrosfer probiotik dengan matrik gelatin 3% dan ukuran terbesar adalah pada F-II yaitu mikrosfer probiotik dengan matrik natrium alginat 3%. Sedangkan F-I yaitu mikrosfer probiotik dengan matriks kombinasi natrium alginat:gelatin (2%:1%) memiliki ukuran lebih besar dari F-III, lebih kecil dari

F-II. Natrium alginat tersusun atas asam guluronat (blok G) dan manuronat (blok M). Pada proses sambung silang terjadi interaksi antara ion Ca^{2+} dengan gugus karboksil pada asam guluronat yang saling berdekatan saja, sedangkan gugus karboksil pada asam manuronat tetap berjajar horizontal dalam keadaan bebas, sehingga menyebabkan ukuran partikel natrium alginat lebih besar dibandingkan dan struktur yang terbentuk porus. Sedangkan pada mikrosfer probiotik

F-I dengan matriks kombinasi natrium alginat-gelatin terbentuk struktur yang lebih kompak dengan porositas yang rendah. Sehingga mikrosfer yang terbentuk memiliki ukuran lebih kecil.

Berdasarkan distribusinya, ukuran dari mikrosfer probiotik F-I, F-II, dan F-III berkisar antara 3 sampai 15 mikron, sehingga masih memenuhi persyaratan ukuran untuk mikrosfer dengan tujuan penggunaan topikal.

Tabel 3. Hasil perhitungan log ALT *Lactobacillus acidophilus*

Formula	ALT (cfu/mL)		log ALT (cfu/mL)	
	Sebelum dibuat mikrosfer	Setelah dibuat mikrosfer	Sebelum dibuat mikrosfer	Setelah dibuat mikrosfer
F-I	$9,37 \times 10^7 \pm 3,51 \times 10^6$	$1,15 \times 10^6 \pm 7,4 \times 10^4$	$7,97 \pm 0,01$	$6,06 \pm 0,02$
F-II	$1,58 \times 10^7 \pm 1,07 \times 10^6$	$1,08 \times 10^6 \pm 7,35 \times 10^4$	$7,20 \pm 0,03$	$6,03 \pm 0,03$
F-III	$7,60 \times 10^6 \pm 7,94 \times 10^5$	$1,02 \times 10^6 \pm 1,39 \times 10^4$	$6,88, \pm 0,04$	$6,01 \pm 0,00$

Keterangan: Data merupakan rata-rata dari replikasi $3x \pm SD$

Dari Tabel 3 diketahui bahwa terjadi penurunan jumlah koloni pada masing-masing mikrosfer probiotik, sebagai akibat proses ekstrusi. Nilai ALT terkecil terjadi pada F-III, namun jumlah koloni ketiga mikrosfer probiotik masih memenuhi persyaratan viabilitas yang dibutuhkan yaitu $10^6 - 10^7$ cfu/mL (Flourou-Paneri dkk., 2013).

Tabel 4. Efisiensi pengebakan mikrosfer probiotik

Mikrosfer Probiotik	Efisiensi Pengebakan (%)
F I	$77,48 \pm 0,17$
F II	$84,20 \pm 0,16$
F III	$87,93 \pm 0,43$

Keterangan: Data merupakan rata-rata dari replikasi $3x \pm SD$

Dari Tabel 4 dapat diketahui bahwa ada pengaruh proses pembuatan mikrosfer terhadap viabilitas *Lactobacillus acidophilus* dalam mikrosfer yaitu terjadinya penurunan viabilitas yang ditunjukkan adanya penurunan jumlah koloni bakteri.

Efisiensi pengebakan diperhitungkan sebagai jumlah koloni bakteri sesudah proses (terjebak dalam mikrosfer) dibagi dengan jumlah koloni sebelum dilakukan proses ekstrusi kemudian dikalikan 100 %. Hasil perhitungan koloni dengan metode ALT diperoleh nilai ALT mikrosfer probiotik F-I, F-II dan F-III sebelum ekstrusi berturut-turut adalah $9,37 \times 10^7 \pm 3,51 \times 10^6$ cfu/g, $1,58 \times 10^7 \pm 1,07 \times 10^6$ cfu/mL, dan $7,60 \times 10^6 \pm 7,94 \times 10^5$ cfu/mL. Nilai ALT dari ketiga formula memenuhi syarat jumlah probiotik sebagai antibakteri yaitu $10^6 - 10^7$ cfu/mL (Flourou-Paneri dkk., 2013). Nilai ALT F-I, F-II dan F-III setelah proses ekstrusi berturut-turut adalah $1,15 \times 10^6 \pm 7,4 \times 10^4$ cfu/mL, $1,08 \times 10^6 \pm 7,35 \times 10^4$ cfu/mL, dan $1,02 \times 10^6 \pm 1,39 \times 10^4$ cfu/mL. Dari data ini dapat disimpulkan bahwa ada pengaruh pembuatan mikrosfer terhadap efisiensi pengebakan bakteri yaitu mengalami penurunan jumlah bakteri yang hidup. Hasil penentuan

efisiensi pengebakan dari ketiga mikrosfer berturut turut formula I, II, dan III adalah 77,48%, 84,20%, dan 87,93%. Hasil analisa statistik dengan *One Way* Anova dan *post hoc* HSD, diketahui bahwa terdapat perbedaan signifikan pada ketiga mikrosfer probiotik. Efisiensi pengebakan terendah terjadi pada mikrosfer probiotik F-I dan tertinggi pada mikrosfer probiotik F-III. Namun ketiga mikrosfer probiotik masih memenuhi ketentuan viabilitas yang dipersyaratkan.

Uji aktivitas antibakteri mikrosfer probiotik

Uji aktivitas antibakteri dilakukan menggunakan bakteri uji *S. aureus* dengan cara mengukur diameter zona hambatnya. *S. aureus* adalah bakteri patogen yang dapat menyebabkan infeksi pada kulit. Hasil pengukuran diameter zona hambat ketiga formula mikrosfer probiotik dapat dilihat pada Tabel 5. Diameter zona hambat mikrosfer probiotik F-I, F-II, dan F-III berturut turut adalah $11,72 \pm 0,58$ mm, $9,8 \pm 0,57$ mm, dan $9,27 \pm 0,19$ mm. Setelah dilakukan analisa statistik *One Way* Anova dilanjutkan *post hoc* HSD, terdapat perbedaan signifikan aktivitas antibakteri pada ketiga mikrosfer probiotik tersebut. Mikrosfer probiotik dengan matriks kombinasi alginat dan gelatin memberikan aktivitas yang lebih besar dibanding formula dengan polimer tunggal, baik natrium alginat 3% maupun gelatin 3%. Diameter zona hambat tertinggi dihasilkan oleh mikrosfer probiotik F-I yaitu sebesar $11,72 \pm 0,58$ mm.

Tabel 5. Diameter zona hambat mikrosfe probiotik

Mikrosfer	Zona Hambat (mm)
Mikrosfer F-I	$11,72 \pm 0,58$
Mikrosfer F-II	$9,8 \pm 0,57$
Mikrosfer F-III	$9,27 \pm 0,19$
Kontrol Positif	$13,22 \pm 0,01$

Keterangan:

Data merupakan rata-rata dari replikasi $3x \pm SD$
Kontrol positif = Gentamisin sulfat

Berdasarkan hasil Log ALT (setelah ekstrusi dan oven) dan aktivitas menunjukkan bahwa hasil Log ALT mikrosfer probiotik F-I > F-II > F-III, dan aktivitas antibakteri F-I > F-II > F-III. Terlihat bahwa harga log ALT linier dengan aktivitas antibakteri, semakin besar harga log ALT, maka semakin tinggi pula aktivitas antibakterinya.

Efisiensi pengebakan F-III > F-II > F-I, namun uji aktivitas F-I > F-II > F-III. Hal ini menunjukkan bahwa mikrosfer probiotik F-I dengan matriks kombinasi natrium alginat-gelatin menghasilkan efisiensi pengebakan terendah namun memberikan aktivitas antibakteri paling tinggi dibanding formula lain. Hal ini dapat dijelaskan dengan data transmitan. Dimana % transmitan F-I, F-II dan F-III berturut turut adalah 81,60%, 85,60%, dan 89,50%. Sedangkan hasil efisiensi pengebakan pada formula I, II dan III adalah 77,48%, 84,20%, dan 87,93%. Semakin rendah transmitan, berarti semakin kecil intensitas cahaya yang diteruskan. Hal dikarenakan semakin banyak jumlah sel bakteri. Oleh karena itu, pada F-I aktivitas antibakterinya paling tinggi, meskipun efisiensi pengebakannya paling rendah. Hal ini disebabkan karena transmitan F-I paling rendah.

Setelah dilakukan kesetaraan konsentrasi terhadap kontrol positif gentamisin sulfat dapat disimpulkan bahwa mikrosfer probiotik F-I, F-II, dan F-III memiliki nilai diatas harga MIC gentamisin sulfat. Minimum *Inhibitory Concentration* (MIC) adalah konsentrasi terendah suatu antibakteri yang dapat menghambat kehidupan mikroorganisme lain (Kumar & Kar, 2014). Kesetaraan konsentrasi mikrosfer probiotik F-I, F-II, dan F-III dengan gentamisin sulfat secara berturut turut adalah 4,45 ppm, 1,19 ppm, dan 0,30 ppm, sedangkan MIC gentamisin sulfat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* adalah 0,71 ppm (Johnson & Levin, 2013). Dapat disimpulkan bahwa mikrosfer probiotik F-I dan F-II mempunyai efektivitas sebagai antibakteri.

KESIMPULAN

Mikrosfer probiotik dengan matriks kombinasi natrium alginat-gelatin (2%:1%) memiliki efisiensi pengebakan *Lactobacillus acidophilus* paling kecil, dan aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* paling besar dibandingkan dengan mikrosfer probiotik dengan matriks natrium alginat 3% dan matriks gelatin 3%. Sedangkan ukuran partikelnya lebih kecil dari mikrosfer probiotik dengan matriks natrium alginat 3%, tetapi lebih besar dari mikrosfer probiotik dengan matriks gelatin 3%.

DAFTAR PUSTAKA

- Agnihotri, N., Mishra, R., Goda, C. & Arora, M. (2012). Microencapsulation - A Novel Approach in Drug Delivery: A Review. *Indo Global Journal of Pharmaceutical Sciences*; 2; 1-20.
- Burgain, J., Gaiani, C., M., Linder & Scher, J. (2011). Encapsulation of Probiotic Living Cells: From Laboratory Scale to Industrial Applications. *Journal of Food Engineering*; 104; 467-483.
- Chávarri, M., Marañón, I. & Villarán, C. (2012). Encapsulation Technology to Protect Probiotic Bacteria. London: IntechOpen.
- Elzoghby, A. E. (2013). Gelatin-based Nanoparticles as Drug and Gene Delivery Systems: Reviewing three Decades of Research. *Journal of Controlled Release*; 172; 1075-1091.
- Flourou-Paneri, P., Christaki, E. & Bonos, E. (2013). Lactic Acid Bacteria as Source of Functional Ingredients: Lactic Acid Bacteria – R & D for Food. London: IntechOpen.
- GMIA. (2012). Gelatin Handbook. Massachusetts: Atlantic Gelatin/Kraft Foods Global Inc.
- Halász, A. (2009). Food Quality and Standards Vol III: Lactic Acid Bacteria. Oxford: EOLSS Publication.
- Inostroza, E. C., Yanez, B., Riquelme, G. & Storh, K. (2012). Formulation Based on the Synthesis of Microspheres Made from Cross Linked Natural Gelatin, Used as a Carrier for Strains of Probiotic *Lactobacillus* spp. for Treating Skin Wounds and/or Lesions. Paris: European Patient Application.
- Johnson, P. J. T. & Levin, B. R. (2013). Pharmacodynamics, Population Dynamics, and the Evolution of Persistence in *Staphylococcus aureus*. *PLOS Genetics*; 9; 1-13.
- Jood, S., Khetarpaul, N. & Goyal, R. (2012). Effect of Germination and Probiotic Fermentation on pH, Titratable Acidity, Dietary Fibre, β -glucan and Vitamin Content of Sorghum Based Food Mixtures. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*; 2; 1-4.
- Joshi, S., Patel, P., Lin, S. & Madan, P. L. (2012). Development of Cross Linked Alginate Spheres by Ionotropic Gelation Technique for Controlled Release of Naproxen Orally. *Asian Journal of Pharmaceutical Science*; 7; 134-142.
- Kumar, R. & Kar, A. (2014). Microencapsulation of Nutraceuticals Using Spray Freeze Drying Method: A Brief Review. *Indo Global Journal of Pharmaceutical Sciences*; 4; 47-51.

- Lannitti, T. & Palmieri, B. (2010). Therapeutical Use of Probiotic Formulations in Clinical Practice. *Clinical Nutrition*; 29; 701-725.
- Lew, L. C. & Liong, M. T. (2013). Bioactives from Probiotics for Dermal Health: Functions and Benefits. *Journal of Applied Microbiology*; 114; 1241-1253.
- Li, X. Y., Chen, X. G., Cha, D. S., Park, H. J. & Liu, C. S. (2009). Microencapsulation of a Probiotic Bacteria with Alginate-Gelatin and Its Properties. *Journal of Microen-capsulation*; 26; 315-324.
- Manjanna, K. M., Pramodkumar, T. M. & Shivakumar, B. (2010). Calcium Alginate Cross-linked Polymeric Microbeads for Oral Sustained Drug Delivery in Arthritis. *Drug Discoveries and Therapeutics*; 4; 109-122.
- Martin, M. (2002). Surfactans and Polymers in Drug Delivery. New York: Marcel Dekker, Inc.
- Mokarram, R. R., Mortazavi, S. A., Habibi, N. M. B. & Shahidi, F. (2009). The Influence of Multi Stage Alginat Coating on Survivability of Potential Probiotic Bacteria in Simulated Gastric and Intestinal Juice. *Food Research International*; 42; 1040-1045.
- Poshadri, A. & Kuna, A. (2010). Microen-capsulation Technology: A Review. *The Journal of Research Angrau*; 38; 86-102.
- Prasant, V. V., Moy, A. C., Mathew, S. T. & Manthapan, R. (2011). Microspheres - An Overview. *International Journal of Research in Pharmaceutical and Biomedical Sciences*; 2; 332-338.
- Sahil, K., Akanksha, M., Premjeet, S., Bilandi, A. & Kapoor, B. (2011). Microsphere: A Review. *International Journal Of Research In Pharmacy And Chemistry*; 1; 1184-1198.
- Saijala, A., Krishna, P., Amareshwar & Chakravarty, P. (2011). Different Techniques Used for the Preparation of Nanoparticles using Natural Polymers and Their Application. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Science*; 3; 45-50.
- Solanki, H. K., Pawar, D. D., Dushyant, A. S., Prajapati, V. D., Jani, G. K., Mulla, A. M., Thakar, P. M. (2013). Development of Microencapsulation Delivery System for Long-Term Preservation of Probiotis as Biotherapeutics Agent. *BioMed Research International*; 2013; 1-21.
- Šušković, J., Kos, B., Beganović, J., Leboš Pavunc, A., Habjanič, K. & Matošić, S. (2010). Antimicrobial Activity – the Most Important Property of Probiotic and Starter Lactic Acid Bacteria. *Food Technology and Biotechnology*; 48; 296-307.