

**PENGARUH VARIASI BAHAN PENGISI  
TERHADAP VIABILITAS *Lactobacillus casei*  
*Shirota strain* DALAM SEDIAAN GRANUL**

**EKA MEGAWATY B. P  
N111 05 219**



**PROGRAM STUDI FARMASI  
FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2010**

SKR-F10  
MEG  
P

**PENGARUH VARIASI BAHAN PENGISI  
TERHADAP VIABILITAS *Lactobacillus casei* Shirota strain  
DALAM SEDIAAN GRANUL**

**SKRIPSI**

**Untuk melengkapi tugas-tugas dan memenuhi  
syarat-syarat untuk mencapai gelar sarjana**

**EKA MEGAWATY B. P  
N111 05 219**

**PROGRAM STUDI FARMASI  
FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2010**

**PENGARUH VARIASI BAHAN PENGISI TERHADAP VIABILITAS  
*Lactobacillus casei* Shirota strain DALAM SEDIAAN GRANUL**

**EKA MEGAWATY B. P  
N111 05 219**

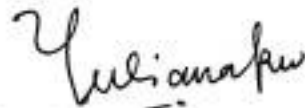
Disetujui oleh :

Pembimbing Utama



Dra. Hj. Sartini, M.Si, Apt  
NIP. 196 11111 198703 2 001

Pembimbing Pertama



Yuliana Retnowati, S.Si, M.Si  
NIP. 197 70717 200604 2 001

Pada tanggal,            Mei 2010

## ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian tentang Pengaruh Variasi Bahan Pengisi Terhadap Viabilitas *Lactobacillus casei Shirota strain* Dalam Sediaan Granul. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui apakah variasi bahan pengisi mempengaruhi viabilitas *Lactobacillus casei Shirota strain*. Penelitian ini dilakukan dengan membuat 3 macam formula granul *Lactobacillus casei Shirota strain* dengan variasi bahan pengisi, yaitu tepung kedelai, laktosa dan tepung pisang. Kemudian dihitung jumlah *Lactobacillus casei Shirota strain* hasil liofilisasi dan setelah proses granulasi yaitu sebelum dan setelah disimpan pada suhu 28-30° C (suhu kamar) masing-masing selama 1 minggu, 2 minggu, 3 minggu dan 4 minggu. Koloni bakteri yang tumbuh dihitung dengan menggunakan metode "Standard Plate Count" dengan menggunakan medium Glukosa Yeast Pepton Agar + CaCO<sub>3</sub>. Hasil uji statistika dengan menggunakan rancangan faktorial menunjukkan bahwa variasi bahan pengisi memberikan pengaruh yang tidak berbeda nyata. Kesimpulan dari penelitian ini adalah variasi bahan pengisi tidak mempengaruhi viabilitas dari *Lactobacillus casei Shirota strain*.

## ABSTRACT

A research about the influence variety of diluents to viability of *Lactobacillus casei Shirota strain* has been done. The aim of this research to know whether the variety of diluents that can affect viability of *Lactobacillus casei Shirota strain*. Three granule formula were made with different diluents e.i soy flour, lactosa and banana flour. The growth of lactic acid bacteria is counted before and after granulation process. Granule of *Lactobacillus casei Shirota strain* was saved at 28°-30° C, respectively for 0 day, one week, two weeks, three weeks and four weeks. The growth of lactic acid bacteria is counted by using standart plate count methode which use Glukosa Yeast Pepton Agar + CaCO<sub>3</sub> medium. Statistic test result with use factorial shows that variety of diluents giving nonsignificant different effect the viability of lactic acid bacteria. The conclusion of this research is that variety of diluents didn't affect the viability of lactid acid bacteria.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Segala Puji hanyalah milik Allah SWT, atas limpahan rahmat dan hidayah-Nya serta kekuatan dan kemudahan yang senantiasa dianugerahkan-Nya kepada penulis sehingga naskah skripsi ini dapat diselesaikan. Penulis mengucapkan terima kasih tak terhingga kepada kedua orang tuaku tercinta, Bambang P. Djarwadi dan Misti N. Sadjar serta adikku tersayang Dea Dini Febriani B. P atas perhatian, kasih sayang, dukungan moril maupun materil serta doa yang tak pernah putus.

Terima kasih setulusnya kepada Ibu Dra. Hj. Sartini, M.Si, Apt selaku Pembimbing Utama, Ibu Yuliana Retnowati S.Si, M.Si selaku Pembimbing Pertama, atas ketulusan dan keikhlasan dalam membimbing, mengarahkan, memberikan petunjuk, menyumbangkan pikiran dan tenaga dalam pelaksanaan penelitian serta penyelesaian skripsi ini.

Ucapan terima kasih kepada Dekan Fakultas Farmasi UNHAS, Bapak dan Ibu dosen Farmasi UNHAS dan PPS1 Farmasi UNHAS-UNG beserta seluruh staf atas segala fasilitas yang diberikan selama penulis menempuh studi hingga menyelesaikan penelitian ini.

Untuk Oma dan Opa terkasih H. Nardia Sadjar dan Hj. Masi Abdjul terima kasih atas segala bentuk perhatian dan dukungan untuk kesuksesan penulis.

Terima kasih kepada keluarga besarku (Djarwadi-Sadjar), Mami dan Papi, sahabatku Dellawati R. Taha, teman-teman farmasi, teman-teman PD Band, keluarga besar AS Center Garden (Home Sweet Home),

semua pihak yang tak dapat ditulis satu per satu dan terkhusus untuk yang selalu memberikan perhatian, doa dan semangat selama ini  
Sukmana Tumulo, SH.

Penulis berharap semoga karya ini dapat bermanfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan khususnya ilmu farmasi di masa yang akan datang...amin

Makassar, Mei 2010

Eka Megawaty B. P

## DAFTAR ISI

	halaman
ABSTRAK .....	iv
ABSTRACT .....	v
UCAPAN TERIMA KASIH .....	vi
DAFTAR ISI .....	viii
DAFTAR TABEL .....	xi
DAFTAR GAMBAR .....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN .....	xiv
BAB I PENDAHULUAN .....	1
BAB II TINJAUAN PUSTAKA .....	4
II.1 Bakteri Asam Laktat .....	4
II.2 Probiotik .....	5
II.3 Prebiotik .....	7
II.3.1 Uraian Kedelai .....	8
II.3.2 Uraian Laktosa .....	10
II.3.3 Uraian Pisang .....	10
II.4 Sinbiotik .....	12
II.5 Granulasi .....	12
II.6 Uraian Bakteri .....	14
II.7 Uraian Bahan .....	15
II.8 Metode Standart Plate Count .....	20



BAB III	PELAKSANAAN PENELITIAN .....	23
III.1	Alat dan Bahan .....	23
III.2	Metode Kerja .....	23
III.2.1	Penyiapan Alat .....	23
III.2.2	Penyiapan Bahan .....	24
III.2.3	Pembuatan Medium .....	24
III.2.4	Peremajaan Bakteri .....	25
III.2.5	Perbanyakkan Kultur Bakteri .....	25
III.2.6	Liofilisasi dan Perhitungan Jumlah <i>Lactobacillus casei</i> Shirota strain .....	26
III.2.7	Pembuatan Bahan Prebiotik .....	26
III.2.7.1	Pembuatan Tepung Kedelai .....	26
III.2.7.2	Pembuatan Tepung Pisang .....	27
III.2.8	Rancangan Formula .....	27
III.2.9	Pembuatan Larutan Pengikat Gelatin 10% .....	27
III.2.10	Pembuatan Granul <i>Lactobacillus casei</i> Shirota strain .....	28
III.2.11	Evaluasi Granul .....	28
III.2.12	Perhitungan Jumlah <i>Lactobacillus casei</i> Shirota strain .....	31
III.2.13	Perhitungan Jumlah <i>Lactobacillus casei</i> Shirota strain Sebelum dan Setelah Penyimpanan ...	31
III.2.14	Pengumpulan Data .....	31
III.2.15	Analisis Data .....	32
III.2.16	Pembahasan Hasil Penelitian .....	32

III.2.17 Pengambilan Kesimpulan .....	32
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN .....	33
IV.1 Hasil Penelitian .....	33
IV.1.1 Jumlah <i>Lactobacillus casei</i> Shirota strain .....	33
IV.1.2 Evaluasi Granul .....	34
IV.2 Pembahasan .....	34
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN .....	43
V.1 Kesimpulan .....	43
V.2 Saran .....	43
DAFTAR PUSTAKA .....	44
LAMPIRAN .....	60

III.2.17 Pengambilan Kesimpulan .....	32
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN .....	33
IV.1 Hasil Penelitian .....	33
IV.1.1 Jumlah <i>Lactobacillus casei</i> Shirota strain .....	33
IV.1.2 Evaluasi Granul .....	34
IV.2 Pembahasan .....	34
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN .....	43
V.1 Kesimpulan .....	43
V.2 Saran .....	43
DAFTAR PUSTAKA .....	44
LAMPIRAN .....	60

## DAFTAR TABEL

Tabel	halaman
1. Komposisi Granul <i>Lactobacillus casei</i> Shirota strain .....	27
2. Jumlah Rata-rata <i>Lactobacillus casei</i> Shirota strain .....	33
3. Hasil Evaluasi Granul <i>Lactobacillus casei</i> Shirota strain .....	34
4. Hasil Perhitungan <i>Lactobacillus casei</i> Shirota strain dalam Serbuk Kultur .....	47
5. Hasil Perhitungan <i>Lactobacillus casei</i> Shirota strain dalam Formula Granul A (Bahan Pengisi Tepung Kedelai) yang Disimpan pada Suhu 28°-30° C (Suhu Kamar) .....	47
6. Hasil Perhitungan <i>Lactobacillus casei</i> Shirota strain dalam Formula Granul B (Bahan Pengisi Laktosa) yang Disimpan pada Suhu 28°-30° C (Suhu Kamar) .....	48
7. Hasil Perhitungan <i>Lactobacillus casei</i> Shirota strain dalam Formula Granul C (Bahan Pengisi Tepung Pisang) yang Disimpan pada Suhu 28°-30° C (Suhu Kamar) .....	48
8. Hasil Perhitungan Uji Kadar Air (%LOD) .....	49
9. Hasil Perhitungan Uji Kadar Air (%MC) .....	49
10. Hasil Perhitungan Uji Kecepatan Alir .....	50
11. Hasil Perhitungan Uji Sudut Istirahat .....	50
12. Hasil Perhitungan Uji Berat Jenis Sejati .....	51
13. Hasil Perhitungan Uji Berat Jenis Nyata .....	52
14. Hasil Perhitungan Uji Berat Jenis Mampat Formula Granul A (Bahan Pengisi Tepung Kedelai) .....	52
15. Hasil Perhitungan Uji Berat Jenis Mampat Formula Granul B (Bahan Pengisi Laktosa) .....	53

16. Hasil Perhitungan Uji Berat Jenis Mampat Formula Granul C (Bahan Pengisi Tepung Pisang) .....	53
17. Hasil Perhitungan Uji Porositas .....	54

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	halaman
1. Struktur Kimia Raffinosa .....	9
2. Struktur Kimia Stakiosa .....	9
3. Struktur Kimia Laktosa .....	10
4. Struktur Kimia Inulin .....	11
5. Skema Kerja Pembuatan Serbuk Kultur <i>Lactobacillus casei</i> <i>Shirota strain</i> .....	55
6. Skema Kerja Pembuatan Granul <i>Lactobacillus casei Shirota strain</i> .....	56
7. Grafik Hubungan Antara Variasi Bahan Pengisi Dengan Jumlah <i>Lactobacillus casei Shirota strain</i> .....	57
8. Granul <i>Lactobacillus casei Shirota strain</i> Dengan Bahan Pengisi Tepung Kedelai .....	58
9. Granul <i>Lactobacillus casei Shirota strain</i> Dengan Bahan Pengisi Laktosa .....	58
10. Granul <i>Lactobacillus casei Shirota strain</i> Dengan Bahan Pengisi Tepung Pisang .....	59
11. Pertumbuhan Bakteri <i>Lactobacillus casei Shirota strain</i> Pada Medium GYP A + CaCO <sub>3</sub> .....	59

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	halaman
1. Komposisi Medium .....	60
2. Contoh Perhitungan Jumlah <i>Lactobacillus casei</i> Shirota strain ..	61
3. Perhitungan Statistika Jumlah <i>Lactobacillus casei</i> Shirota strain ( $\times 10^8$ ) dalam granul Menggunakan Rancangan Faktorial .....	62

# BAB I

## PENDAHULUAN

*Lactobacillus* merupakan salah satu bakteri asam laktat yang termasuk bakteri probiotik (1).

Probiotik didefinisikan sebagai pangan/suplemen pangan yang berisi mikroba hidup yang memberikan efek menguntungkan bagi kesehatan. Untuk itu, Probiotik harus dikonsumsi dalam jumlah yang cukup sehingga mempengaruhi jumlah mikroflora usus yang menguntungkan tubuh (2,3). Terjaminnya vaibilitas probiotik dalam produk makanan harus mengandung minimal  $10^6 - 10^8$  sel/ml (2,9).

Bakteri probiotik dapat berkoloni di usus, memiliki kemampuan bertahan terhadap garam empedu dan kondisi asam sehingga dapat mencapai usus dalam keadaan hidup (4).

Napitupulu (5) telah melakukan penelitian Isolasi dan Uji Resistensi Beberapa Isolat *Lactobacillus* pada pH Rendah. Hasil penelitian menunjukkan isolat *Lactobacillus* mampu mempertahankan hidupnya pada pH rendah (5).

Beberapa efek menguntungkan dari bakteri *Lactobacillus* dalam bentuk probiotik adalah dapat berperan memulihkan kembali keseimbangan saluran pencernaan hingga mencapai kondisi normal. Membantu mengatasi intoleransi terhadap laktosa, berperan dalam pembentukan dan peningkatan sistem imun (2,5).



Dalam bidang industri, penggunaan bakteri probiotik saat ini telah mengalami peningkatan. Produk yang dihasilkan dapat berupa sediaan cair, padat ataupun semi padat. Untuk memperoleh suatu produk minuman siap saji yang dapat digunakan secara instant, memiliki bentuk dan penampilan yang menarik serta dapat disimpan dalam jangka waktu tertentu maka sediaan ini dibuat dalam bentuk granul.

Granul dapat digunakan secara langsung sebagai suatu bentuk sediaan padat yang dapat diberikan dalam bentuk sachet, kapsul dan produk-produk yang dilarutkan secara instant (7). Bentuk granul lebih stabil secara fisik dan kimia dari pada serbuk, biasanya lebih tahan terhadap pengaruh udara (8).

Dalam pembuatan granul, bahan pengisi merupakan bahan yang jumlahnya paling banyak dalam sediaan. Pada penelitian ini bahan pengisi divariasikan menggunakan bahan bersifat prebiotik yang diharapkan dapat meningkatkan viabilitas *Lactobacillus casei* Shirota strain hingga mencapai usus. Karena prebiotik merupakan nutrisi yang sesuai bagi bakteri asam laktat (2).

Bidasari (6) telah melakukan penelitian Uji Viabilitas Bakteri Asam Laktat Dalam Granul "Soyghurt" Dengan Variasi Suhu dan Lama Penyimpanan. Hasil penelitian menunjukkan suhu penyimpanan tidak mempengaruhi viabilitas bakteri asam laktat sedangkan lama penyimpanan mempengaruhi viabilitas dari bakteri asam laktat (6).

Dari uraian di atas, masalah yang timbul adalah bahan pengisi manakah yang paling tepat untuk memformulasi granul yang dapat meningkatkan viabilitas *Lactobacillus casei Shirota strain* dan apakah variasi bahan pengisi berpengaruh terhadap viabilitas (kemungkinan untuk dapat bertahan hidup) *Lactobacillus casei Shirota strain*.

Untuk itu telah dilakukan penelitian mengenai viabilitas *Lactobacillus casei Shirota strain* dalam granul, dengan cara dibuat 3 macam formula granul *Lactobacillus casei Shirota strain* dengan memvariasikan bahan pengisi menggunakan metode granulasi basah. Masing-masing formula menggunakan bahan pengisi yang bervariasi yaitu tepung kedelai, laktosa dan tepung pisang. Selanjutnya granul yang terbentuk dievaluasi, meliputi uji kadar air, uji sudut istirahat, uji kecepatan alir, uji bobot jenis sejati, uji bobot jenis nyata, uji bobot jenis mampat dan uji porositas. Kemudian dihitung total bakteri asam laktat sebelum dan sesudah proses granulasi serta setelah masa penyimpanan yang bervariasi masing-masing selama 0 hari, 1 minggu, 2 minggu, 3 minggu dan 4 minggu pada suhu 28-30° C. Koloni bakteri dihitung dengan menggunakan metode "Standard Plate Count".

Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui apakah variasi bahan pengisi mempengaruhi viabilitas *Lactobacillus casei Shirota strain*.

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### II.1 Bakteri Asam Laktat

Bakteri asam laktat ditemukan pertama kali oleh Pasteur, seorang profesor Kimia University of Lille, tahun 1878. Bakteri asam laktat dan Bifidobakteria termasuk dalam kelompok bakteri "baik" bagi manusia dan umumnya memenuhi standar GRAS (Generally Recognised As Safe) yaitu aman bagi manusia. Kelompok bakteri ini tidak membusukkan protein, dan dapat memetabolisme berbagai jenis karbohidrat secara fermentatif menjadi asam laktat sehingga disebut bakteri asam laktat (2).

Secara umum bakteri asam laktat didefinisikan sebagai suatu kelompok bakteri gram positif, tidak menghasilkan spora, berbentuk bulat atau batang, membutuhkan nutrisi kompleks seperti asam-asam amino, vitamin (B<sub>1</sub>, B<sub>6</sub>, B<sub>12</sub> dan biotin), purin, pirimidin, yang memproduksi asam laktat sebagai produk akhir metabolik utama selama fermentasi karbohidrat (5).

Asam laktat yang dihasilkan oleh bakteri ini akan menurunkan nilai pH lingkungan pertumbuhannya dan menimbulkan rasa asam. Hal ini juga yang dapat menghambat pertumbuhan dari beberapa jenis mikroba lain. Kondisi keasaman optimum adalah pH 4,0-5,0 sehingga bakteri asam laktat sangat kompetitif dibanding mikroba lain yang ada dalam susu (2,5).

Di samping peran utama bakteri asam laktat dalam fermentasi makanan, ada fungsi lain yang tidak kalah penting bagi kesehatan manusia. Bukti-bukti riset para peneliti dunia menunjukkan bahwa bakteri asam laktat yang dikonsumsi hidup dan tetap hidup di saluran pencernaan memberikan kontribusi positif bagi kesehatan, melalui aktivitas metabolismenya dan dikenal dapat memberikan manfaat probiotik (2).

Secara fisiologis dan berdasarkan aktivitas metabolismenya, bakteri asam laktat dikelompokkan ke dalam dua jenis, yaitu homofermentatif dan heterofermentatif. Bakteri asam laktat homofermentatif hanya menghasilkan asam laktat, sedangkan bakteri asam laktat heterofermentatif selain menghasilkan asam laktat juga menghasilkan etanol, asam asetat, dan senyawa citarasa (2).

Berdasarkan suhu optimum pertumbuhannya, bakteri asam laktat dikelompokkan menjadi dua jenis, yaitu mesofilik, dengan suhu optimum bagi pertumbuhannya 25° C, sedangkan suhu maksimumnya adalah 37-40° C, dan termofilik, suhu optimum bagi pertumbuhannya 37-45° C, sedangkan suhu maksimumnya adalah 45-52° C. *Lactobacilli* bersifat homofermentatif, termofilik (2).

## II.2 Probiotik

Istilah probiotik berasal dari bahasa Yunani "Probios" yang berarti untuk kehidupan. Terdapat banyak macam definisi yang dibuat, tetapi banyak yang dipakai adalah yang telah dikemukakan oleh Fuller dan Gibson yaitu bakteri hidup yang diberikan sebagai suplemen makanan

yang mempunyai pengaruh menguntungkan pada kesehatan baik pada manusia maupun hewan, dengan memperbaiki keseimbangan mikroflora intestinal (2,11).

Hasil riset membuktikan bahwa bakteri probiotik bertahan hidup dalam saluran pencernaan setelah dikonsumsi. Bakteri ini tahan terhadap lisozim, enzim di air liur, pemecah dinding sel bakteri, asam, asam empedu, untuk sampai di usus dalam keadaan hidup. Mampu melekat pada sel epitelial, dan menjaga keharmonisan komposisi bakteri saluran pencernaan. Selanjutnya ia membantu mengatasi intoleransi terhadap laktosa, mencegah diare, sembelit, kanker, hipertensi, menurunkan kolesterol, menormalkan komposisi bakteri saluran pencernaan setelah pengobatan antibiotik serta meningkatkan sistem kekebalan tubuh (2,5).

Aplikasi probiotik dalam makanan fungsional saat ini tidak hanya terbatas pada produk olahan susu, tetapi sudah berkembang ke produk-produk makanan baru seperti fermentasi sereal, makanan formula bayi, jus buah, fermentasi produk-produk kedelai dan berbagai macam makanan yang bersifat menanggulangi penyakit (2).

Agar suatu mikroorganisme menjadi probiotik yang efektif dalam memberikan efek kesehatan maka disyaratkan (2):

1. Berasal dari manusia (human origin), stabil terhadap asam maupun cairan empedu.
2. Dapat menempel pada sel intestine manusia, memproduksi senyawa antimikroba.

3. Dapat melawan bakteri patogenik dan kariogenik, telah teruji secara klinis aman dikonsumsi.
4. Tetap hidup selama pengolahan dan penyimpanan.

### II.3 Prebiotik

Selain istilah probiotik, dikenal juga istilah prebiotik yang merupakan kelompok oligosakarida seperti raffinosa, stakiosa, galaktooligosakarida, inulin serta beberapa jenis peptida dari protein yang tidak dapat dicerna di lambung namun dapat dicerna oleh bakteri asam laktat. Prebiotik merupakan nutrisi yang sesuai bagi bakteri asam laktat sehingga dapat meningkatkan daya kerja dari bakterin probiotik di dalam saluran pencernaan (2,12).

Sumber prebiotik alami adalah ASI dalam bentuk oligosakarida yang hanya sedikit dicerna di usus (<5%). Selain itu secara alami fruktooligosakarida terdapat dalam berbagai sayur dan buah, misalnya bawang, asparagus, kedelai, pisang dan oligosakarida pada kedelai. Jenis prebiotik yang sering dipakai seperti FOS (fruktooligosakarida), inulin, GOS (galaktooligosakarida), laktulosa, laktitol.

Bahan makanan yang diklasifikasikan sebagai prebiotik harus (2) :

1. Tidak dihidrolisa dan tidak diserap di bagian atas traktus gastrointestinal sehingga dapat mencapai kolon tanpa mengalami perubahan struktur dan tidak diekskresikan dalam tinja.

2. Substrat selektif untuk satu atau sejumlah mikroflora komensal yang menguntungkan dalam kolon, jadi memicu pertumbuhan bakteri yang aktif melakukan metabolisme.
3. Mampu merubah mikroflora kolon menjadi komposisi yang menguntungkan kesehatan.

Di dalam usus besar, bahan prebiotik akan difermentasi oleh bakteri probiotik dan menghasilkan asam lemak rantai pendek dalam bentuk asetat, propionat dan butirat ; gas hidrogen, hidrogen sulfida, karbon dioksida dan metan; dan L-laktat, piruvat, suksinat dan format. Oleh asam lemak rantai pendek tersebut dipakai sebagai sumber energi. Asetat, propionat dan butirat yang tidak dimetabolisme akan diabsorpsi dari kolon dibawa melalui sirkulasi darah menuju ke hati untuk dimetabolisme. Asetat, propionat yang dimetabolisme di hati selanjutnya dibawa melalui sistem sirkulasi menuju berbagai jaringan (2).

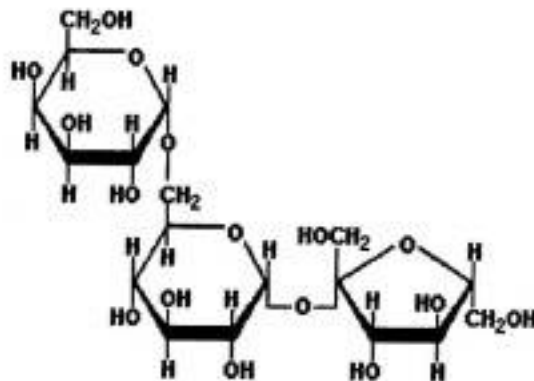
### **II.3.1 Uraian Kedelai**

Di antara jenis kacang-kacangan, kedelai merupakan sumber protein yang paling baik. Di samping itu, kedelai juga dapat digunakan sebagai sumber lemak, vitamin, mineral dan serat (13).

Kedelai mengandung karbohidrat sekitar 35%. Dari kandungan karbohidrat tersebut, hanya 12-14% saja yang dapat digunakan tubuh secara biologis. Karbohidrat pada kedelai terdiri atas golongan oligosakarida dan polisakarida. Golongan oligosakarida terdiri dari sukrosa, stakiosa dan raffinosa yang laut dalam air sedangkan golongan

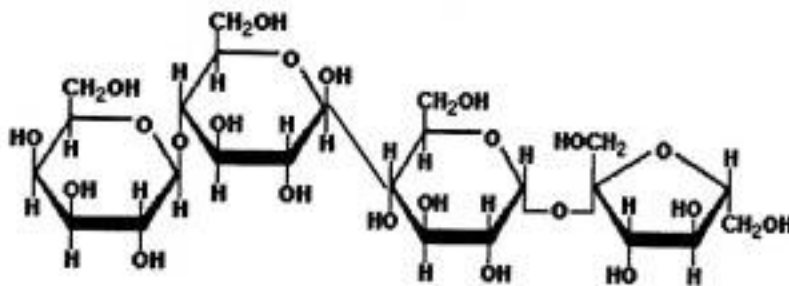
polisakarida terdiri dari arabinolaktan dan bahan-bahan selulosa yang tidak larut dalam air dan alkohol (13).

Raffinosa adalah suatu trisakarida yang penting, terdiri atas tiga molekul monosakarida yang berikatan yaitu galaktosa-glukosa-fruktosa. Atom karbon 1 pada galaktosa berikatan dengan atom karbon 6 pada glukosa, selanjutnya atom karbon 1 pada glukosa berikatan dengan atom karbon 2 pada fruktosa. Apabila dihidrolisis sempurna, raffinosa akan menghasilkan galaktosa, glukosa dan fruktosa (14,15).



Gambar 1. Struktur kimia raffinosa

Stakiosa adalah suatu tetrasakarida. Stakiosa tidak mempunyai sifat mereduksi. Dengan jalan hidrolisis sempurna, stakiosa menghasilkan 2 molekul galaktosa, 1 molekul glukosa dan 1 molekul fruktosa (14,15).

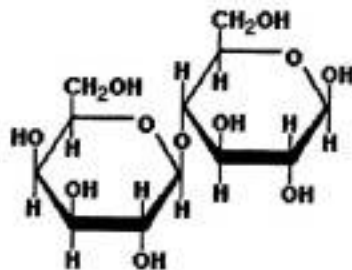


Gambar 2. Struktur kimia stakiosa



### II.3.2 Uraian Laktosa

Laktosa merupakan gula yang termasuk dalam bentuk karbohidrat disakarida. Merupakan gula yang mempunyai rumus umum  $C_{12}H_{22}O_{11}$ . Senyawa ini didapatkan hanya pada susu, dan menjadi satu-satunya karbohidrat dalam susu. Hidrolisis laktosa menghasilkan galaktosa dan glukosa. Ikatan galaktosa dan glukosa terjadi antara atom karbon nomor 1 pada galaktosa dan atom karbon nomor 4 pada glukosa. Oleh karenanya molekul laktosa masih mempunyai gugus -OH glikosidik, dengan demikian laktosa mempunyai sifat mereduksi (14.15).



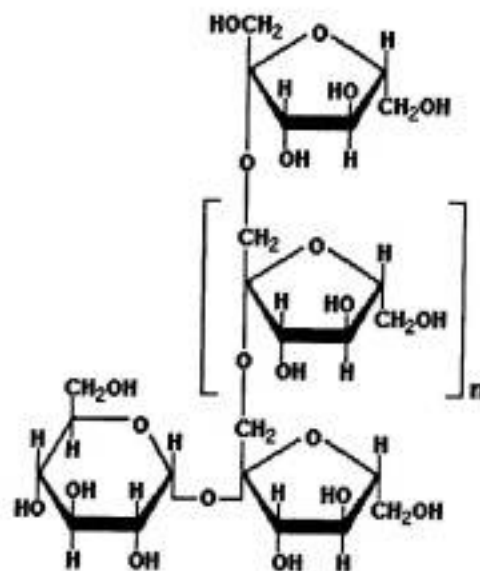
Gambar 3. Struktur kimia laktosa

### II.3.3 Uraian Pisang

Pisang kaya mineral seperti kalium, magnesium, fosfor, besi dan kalsium. Bila dibandingkan dengan makanan nabati lain, mineral pisang khususnya besi, hampir seluruhnya (100%) dapat diserap tubuh (16).

Kandungan vitaminnya sangat tinggi, terutama provitamin A yaitu betakaroten, vitamin B yaitu tiamin, riboflavin, niasin, dan vitamin B<sub>6</sub> (piridoxin) sedangkan kandungan inulin dalam pisang sekitar 0,3-0,7 % (16).

Inulin (serat yang tidak dicerna) adalah prebiotik yang membantu pertumbuhan dari bakteri yang baik ini di dalam usus. Gunanya adalah sebagai makanan bagi organisme ini. *Lactobacillus* dan *Bifidobacteria* yang merupakan probiotik dapat mencerna inulin. Inulin termasuk dalam golongan karbohidrat tipe fruktan, polimer yang terdiri atas unit-unit fruktosa yang berikatan dengan satu unit glukosa. Ikatan antar unit fruktosa dalam inulin adalah ikatan  $\beta$ -(2-1) glikosidik. Inulin merupakan gabungan rantai fruktan yang panjangnya antara 2 sampai 60 unit dengan derajat polimerasi (DP)  $\pm 9$  (14,15).



Gambar 4. Struktur kimia inulin

Inulin adalah bahan alami yang ditemukan dalam lebih dari 35.000 tumbuhan dan sayuran di seluruh dunia. Berbagai tanaman dari famili monokotil dan dikotil yang mengandung inulin adalah bawang (2-6%), pisang (0,3-0,7%), asparagus (10-15%) dan gandum (1-4%) (14).

Inulin ditambahkan dalam berbagai jenis makanan karena rasa yang manis dan tekstur yang baik. Inulin digunakan sebagai pengganti gula, pengganti lemak dan digunakan pada berbagai produk makanan untuk meningkatkan rasa, stabilitas dan penerimaan karena memberikan tekstur yang baik. Karena inulin adalah produk tumbuhan alami yang sudah biasa dikenal manusia, resiko reaksi alergi atau ketidakcocokan akan inulin sangatlah minimal. *Lactobacillus* dan *Bifidobacteria* mencerna inulin menjadi asam lemak rantai pendek seperti asam propionat dan asam butirat (16).

#### **II.4 Sinbiotik**

Kombinasi antara probiotik dan prebiotik untuk meningkatkan kesehatan tubuh disebut sinbiotik (2).

Meskipun formulasi probiotik telah memberikan banyak keuntungan bagi tubuh, terdapat kemungkinan untuk meningkatkan daya tahan hidup mikroflora usus yang menguntungkan dengan menambahkan prebiotik dalam makanan sebagai substrat spesifik yang tersedia untuk fermentasi. Probiotik aktif bekerja terutama pada usus kecil dan probiotik hanya efektif digunakan pada usus besar, kombinasi keduanya akan memberikan efek sinergis dan lebih menguntungkan tubuh (2).

#### **II.5 Granulasi**

Granulasi adalah suatu proses dari pembesaran ukuran partikel. Pada proses ini partikel-partikel kecil dikumpulkan menjadi lebih besar

sehingga terbentuk gumpalan-gumpalan permanen, tetapi partikel-partikel awalnya tetap dapat diidentifikasi. Dalam banyak hal, proses ini digunakan untuk memproduksi tablet atau kapsul, dimana granul dengan distribusi ukuran yang luas dibuat sebagai produk antara. Granul-granul juga dapat digunakan secara langsung sebagai suatu bentuk sediaan untuk membuat bahan obat untuk diberikan dalam bentuk sachet, kapsul, dan produk-produk yang dilarutkan secara instant (8).

Alasan utama untuk menggranulasi serbuk dari bahan awal dalam pembuatan tablet atau granul adalah untuk (7) :

1. Meningkatkan sifat aliran dan juga keseragaman bobot pada dosis.
2. Mencegah pemisahan bahan-bahan campuran.
3. Meningkatkan sifat aliran pengempaan dari campuran.
4. Mengurangi bahaya lingkungan dari para pekerja karena debu yang terbentuk dari bahan beracun.
5. Membuatnya lebih mudah untuk disimpan dan ditransportasikan.
6. Meningkatkan penampilan dari produk.

Granulasi basah adalah gumpalan serbuk yang dihasilkan oleh pencampuran serbuk atau campuran serbuk dengan air, biasanya berupa larutan pengikat yang encer atau air jika pengikat ditambahkan dalam bentuk serbuk kering. Proses ini dapat mengikuti langkah-langkah berikut (7) :

1. Penghalusan bahan awal dengan cara penggilingan atau pengayakan.
2. Pencampuran kering dari bahan awal.

sehingga terbentuk gumpalan-gumpalan permanen, tetapi partikel-partikel awalnya tetap dapat diidentifikasi. Dalam banyak hal, proses ini digunakan untuk memproduksi tablet atau kapsul, dimana granul dengan distribusi ukuran yang luas dibuat sebagai produk antara. Granul-granul juga dapat digunakan secara langsung sebagai suatu bentuk sediaan untuk membuat bahan obat untuk diberikan dalam bentuk sachet, kapsul, dan produk-produk yang dilarutkan secara instant (8).

Alasan utama untuk menggranulasi serbuk dari bahan awal dalam pembuatan tablet atau granul adalah untuk (7) :

1. Meningkatkan sifat aliran dan juga keseragaman bobot pada dosis.
2. Mencegah pemisahan bahan-bahan campuran.
3. Meningkatkan sifat aliran pengempaan dari campuran.
4. Mengurangi bahaya lingkungan dari para pekerja karena debu yang terbentuk dari bahan beracun.
5. Membuatnya lebih mudah untuk disimpan dan ditransportasikan.
6. Meningkatkan penampilan dari produk.

Granulasi basah adalah gumpalan serbuk yang dihasilkan oleh pencampuran serbuk atau campuran serbuk dengan air, biasanya berupa larutan pengikat yang encer atau air jika pengikat ditambahkan dalam bentuk serbuk kering. Proses ini dapat mengikuti langkah-langkah berikut (7) :

1. Penghalusan bahan awal dengan cara penggilingan atau pengayakan.
2. Pencampuran kering dari bahan awal.

3. Penambahan larutan pengikat.
4. Pengayakan basah untuk menghilangkan gumpalan yang besar.
5. Pengeringan.
6. Penggilingan atau pengayakan dari granul kering untuk memperoleh distribusi ukuran granul yang diinginkan.

Granul mengalir lebih baik daripada serbuk. Dari bahan asal yang sama, bentuk granul lebih stabil secara fisik dan kimia daripada serbuknya (7,8).

Granul lebih tahan terhadap pengaruh udara. Granul lebih mudah dibasahi oleh pelarut daripada serbuk yang cenderung akan mengambang di atas permukaan pelarut, sehingga granul lebih mudah menjadi larutan (21).

Jika bahan obat sangat dipengaruhi oleh pengikat berair, maka pengikat dapat digunakan tanpa air, yaitu dalam bentuk kering. Umumnya pengikat akan lebih efektif apabila dicampurkan dalam bentuk cair. Bahan pengikat yang akan ditambahkan ke dalam campuran obat harus memberikan kelembaban yang cukup agar serbuk dapat bercampur. Proses pencampuran ini harus dilakukan secara hati-hati agar massa yang dihasilkan tidak terlalu basah dan tidak terlalu kering (8).

## II.6 Uraian Bakteri

- *Lactobacillus casei* (18)

Divisio : Protophyta

Kelas : Schizomycetes

Bangsa	: Eubacteriales
Sub bangsa	: Eubacterineae
Suku	: Lactobacteriaceae
Sub suku	: Streptococceae
Genus	: Lactobacillus
Spesies	: <i>Lactobacillus casei</i>

*Lactobacillus casei* Shirota strain adalah bakteri asam laktat yang diisolasi dari Yakult ®. Gram positif, berbentuk batang, fakultatif anaerob, tahan terhadap asam. *Lactobacillus* dapat memfermentasi gula dengan sejumlah asam laktat, sehingga dapat digunakan dalam produksi makanan dan minuman fermentasi. Umumnya paling tahan terhadap asam di antara bakteri lainnya, dan dapat tumbuh pada suhu tinggi sehingga bakteri ini tahan terhadap proses pasteurisasi. Suhu optimum pertumbuhannya 30-40° C. merupakan flora normal dalam usus, juga ditemukan pada mulut dan vagina.

## II.7 Uraian Bahan

### 1. Cab-O-Sil (19)

Nama resmi	: Coloidal Silicon Dioxide
Sinonim	: Aerosil, silica koloidal
Rumus bangun	: SiO <sub>2</sub>
Bobot molekul	: 60,08

Pemerian	: Submikroskopik, terang, longgar, putih kebiruan, tidak berbau, tidak berasa, serbuk amorf, bersifat mikroskopik.
Kelarutan	: Tidak larut dalam pelarut organik, air asam, kecuali asam hidrofluorik; larut dalam larutan alkali hidroksida panas.
Kestabilan	: Bila digunakan pada larutan encer dengan pH antara 0-7,5 maka Cab-O-Sil efektif meningkatkan viskositas dari larutan tersebut sedangkan pada pH >7,5 efektifitasnya akan berkurang dan pada pH >10 akan kehilangan efektifitasnya.
Inkompatibilitas	: Tidak tercampurkan dengan sediaan dietilstilbestrol.
Kegunaan	: Adsorben
Konsentrasi	: 0,1-0,5%
<b>2. Ac-Di-Sol (19)</b>	
Nama resmi	: Croscarmellosa Sodium
Sinonim	: Primellose, solutab
Rumus bangun	: $[C_6H_7O_2(OH)_{3-x}(OCH_2-COONa)_x]_n$
Bobot molekul	: 90.000-700.000
Pemerian	: Serbuk berwarna putih, tidak berbau.



Kelarutan	: Tidak larut dalam air, namun demikian Ac-Di-Sol bila kontak dengan air akan cepat mengembang hingga 4-8 kali dari volume awal.
Kestabilan	: Ac-Di-Sol stabil, meskipun merupakan bahan yang higroskopik. Sebaiknya disimpan di dalam wadah tertutup baik, ditempat sejuk dan kering.
Inkompatibilitas	: Efek sebagai penghancur dapat berkurang dalam formulasi tablet, baik dengan metode granulasi basah maupun pengempaan langsung dengan adanya bahan higroskopik, misalnya sorbitol. Ac-Di-Sol tidak bercampur dengan asam kuat atau dengan garam besi dan logam larut air, misalnya aluminium, merkuri dan seng.
Kegunaan	: Penghancur
Konsentrasi	: 0,5-5,0%
3. Gelatin (19,20)	
Nama resmi	: Gelatin
Sinonim	: Puregel, Pharmagel

Pemerian	: Gelatin hampir tidak berasa dan tidak berbau. Berbentuk seperti kaca, padatan rapuh dan berwarna hampir kuning.
Kelarutan	: Tidak larut dalam air pada suhu 25° C, pada suhu 37° C lebih dari 20% segera larut, dan pada suhu 100° C secara perlahan-lahan mengalami kerusakan. Tidak larut dalam etanol, isopropanol, methanol, aseton. Larut dalam sekitar 5% dalam asam dan basa-basa asetat. Asam dan basa kuat cenderung menyebabkan pengendapan.
Kestabilan	: Gelatin kering yang disimpan pada suhu kamar dalam wadah tertutup rapat tidak berubah selama bertahun-tahun. Larutan gelatin encer sebaiknya disimpan pada suhu dingin. Pada suhu di bawah 50° C dapat menyebabkan depolimerisasi larutan encer dan penurunan kekentalan gel.
Inkompatibilitas	: Pengendapan dapat terjadi dengan adanya asam tanat encer, larutan alkohol, trinitrofenol, dan air klorin pekat.
Kegunaan	: Pengikat
Konsentrasi	: 2-10%

## 4. Laktosa (20)

Nama resmi	: Laktosa
Sinonim	: Lactosum, Saccharum Lactis
Rumus bangun	: $C_{12}H_{22}O_{11} \cdot H_2O$
Pemerian	: Serbuk hablur, putih, tidak berbau, rasa agak manis
Kelarutan	: Larut dalam 6 bagian air, 1 bagian air mendidih, sukar larut dalam etanol (95%) P, praktis tidak larut dalam kloroform P dan dalam eter P.
Penyimpanan	: Dalam wadah tertutup baik
Kegunaan	: Zat tambahan

## 5. Kedelai (21,22)

Kingdom	: Plantae
Divisio	: Spermatophyta
Subdivisio	: Angiospermae
Class	: Dicotyledoneae
Subclass	: Dialypetalae
Ordo	: Rosales
Familia	: Papilionaceae
Genus	: Glicine
Species	: <i>Glicine max</i> Linn

## 6. Pisang (21,23)

Kingdom	: Plantae
Divisio	: Spermatophyta
Subdivisio	: Angiospermae
Class	: Monocotyledoneae
Ordo	: Zingiberales (Scitamineae)
Familia	: Musaceae
Genus	: Musa
Species	: <i>Musa paradisiacal</i> Linn

### II.8 Metode "Standard Plate Count" (SPC)

Ada beberapa cara yang dapat digunakan untuk menentukan jumlah bakteri. Tapi pada prinsipnya hanya dua dasar perhitungan, yaitu perhitungan langsung dan tidak langsung (24,25) :

1. Perhitungan langsung maksudnya adalah menghitung jumlah bakteri secara langsung dengan menggunakan mikroskop, baik bakteri hidup maupun yang sudah mati.
2. Metode SPC adalah perhitungan jumlah bakteri secara langsung. Jika perhitungan jumlah bakteri dengan mikroskop yang dihitung adalah bakteri-bakteri yang mati dan yang hidup (total bakteri), maka dengan SPC yang dihitung hanyalah bakteri-bakteri yang hidup.

Data yang dilaporkan sebagai SPC harus mengikuti peraturan-peraturan sebagai berikut (24,25) :

1. Dipilih cawan petri dari satu pengenceran yang menunjukkan jumlah koloni antara 30-300. Jumlah koloni rata-rata dari kedua cawan dihitung, lalu dikalikan dengan faktor pengencerannya. Hasil dinyatakan sebagai angka lempeng total dalam tiap gram contoh.
2. Bila salah satu dari cawan petri menunjukkan jumlah koloni 30 atau lebih dari 300 koloni, dihitung jumlah rata-rata koloni, kemudian dikalikan dengan faktor pengencerannya. Hasil dinyatakan sebagai angka lempeng total dalam tiap gram contoh.
3. Jika terdapat cawan-cawan dari dua tingkat pengenceran yang berurutan menunjukkan jumlah koloni antara 30-300. maka dihitung jumlah koloni dari masing-masing tingkat pengenceran kemudian dikalikan dengan faktor pengencerannya. Apabila hasil perhitungan pada tingkat yang lebih tinggi diperoleh jumlah koloni rata-rata yang lebih besar dari 2 kali jumlah koloni rata-rata pada pengenceran di bawahnya, maka angka lempeng total dipilih dari tingkat pengenceran yang lebih rendah. Bila hasil perhitungan pada tingkat yang lebih tinggi diperoleh jumlah koloni rata-rata kurang dari 2 kali jumlah koloni rata-rata pada pengenceran di bawahnya, maka angka lempeng total dihitung dari rata-rata jumlah koloni kedua tingkat pengenceran tersebut.
4. Bila tidak ada satupun koloni dalam cawan maka angka lempeng total dinyatakan sebagai < dari satu dikalikan faktor pengenceran terendah.

5. Jika seluruh cawan menunjukkan jumlah koloni lebih dari 300, dipilih cawan dari tingkat pengenceran tertinggi kemudian dibagi menjadi beberapa sektor (2,4 atau 8) dan dihitung jumlah koloni dari satu sektor. Angka lempeng total adalah jumlah koloni dikalikan rata-rata dari kedua cawan dan dikalikan dengan faktor pengenceran.
6. Jika jumlah koloni rata-rata dari 1/8 bagian cawan lebih dari 200, maka angka lempeng total dinyatakan lebih besar dari  $200 \times 8$  dikalikan faktor pengenceran.
7. Perhitungan dan pencatatan hasil angka lempeng total hanya ditulis dalam dua angka. Angka berikutnya dibulatkan ke bawah bila kurang dari 5 dan dibulatkan ke atas bila lebih dari 5.
8. Jika dijumpai koloni "spreader" meliputi seperempat sampai setengah bagian cawan, maka dihitung koloni yang tumbuh di luar daerah spreader. Jika 75% dari seluruh cawan mempunyai koloni "spreader" dengan keadaan seperti di atas, maka dicatat sebagai "Spr". Untuk keadaan ini harus dicari penyebabnya dan diperbaiki cara kerjanya (dilakukan pengujian ulang).
9. Jika dijumpai koloni spreader tipe rantai, maka tiap satu deret koloni yang terpisah dihitung seperti satu koloni, dan bila dalam kelompok spreader terdiri atas beberapa rantai maka tiap rantai dihitung sebagai satu koloni.

## BAB III

### PELAKSANAAN PENELITIAN

#### III.1 Alat dan Bahan yang Digunakan

Alat yang digunakan adalah alat liofilisasi (BETA), inkubator (memmert), autoklaf (memmert), lemari pendingin (panasonic), oven (WTB Binder type E115), enkas, lemari pengering granul, alat shaker (burrell), sentrifuse dingin (universal 320R hettich), pengayak nomor 14 dan 16, termometer, piknometer, tangas air, mikropipet, timbangan analitik (Chyo), stopwatch, jangka sorong, alat-alat gelas laboratorium (pyrex ®, unesco ®), dll.

Bahan-bahan yang digunakan adalah bakteri *Lactobacillus casei* *Shirota strain* (isolat Yakult ®), air suling, Ac-Di-Sol, Cab-O-Sil, gelatin 10%, medium GYPA (Glukosa Yeast Pepton Agar), CaCO<sub>3</sub>, medium MRS (De Man Ragosa and Sharpe) Agar, MRS (De Man Ragosa and Sharpe) Broth, tepung kedelai, laktosa, tepung pisang, vanili, paraffin, kapas dan aluminium foil.

#### III.2 Metode Kerja

##### III.2.1 Penyiapan Alat

Alat-alat yang digunakan dicuci bersih dengan detergen sampai bersih lalu dibilas dengan air suling. Alat-alat gelas direndam dalam larutan Na<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> 1% dan dididihkan, kemudian dicuci dengan air suling hingga bersih. Selanjutnya direndam dalam larutan HCl 1% selama 24 jam

untuk melarutkan lapisan fosfat pada gelas dan dibilas kembali dengan air suling dan keringkan di udara terbuka, lalu tutup dengan aluminium foil. Tabung reaksi dan labu Erlenmeyer terlebih dahulu disumbat dengan kapas bersih. Alat yang terbuat dari gelas disterilkan dalam oven pada suhu  $180^{\circ}\text{C}$  selama 2 jam. Alat-alat tidak tahan pemanasan tinggi disterilkan dalam autoklaf pada suhu  $121^{\circ}\text{C}$ , tekanan 1 atm selama 15 menit. Jarum ose disterilkan dengan cara pemanasan langsung hingga memijar selama 30 menit.

### III.2.2 Penyiapan Bahan

Bahan penelitian yang digunakan adalah bakteri *Lactobacillus casei* Shirota strain isolat dari Yakult ® yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Farmasi, Universitas Hasanuddin dalam bentuk biakan murni.

### III.2.3 Pembuatan Medium

#### a. Medium MRS (De Man Ragosa and Sharpe) Agar

Cara pembuatan :

Semua bahan ditimbang untuk 300 ml medium, dimasukkan ke dalam erlenmeyer, dan dilarutkan dengan 300 ml air suling. Kemudian dicek pH 6,5 selanjutnya dipanaskan di atas penangas air. Kemudian disterilkan dalam autoklaf pada suhu  $121^{\circ}\text{C}$ , tekanan 1 atm selama 15 menit.

#### b. Medium MRS (De Man Ragosa and Sharpe) Broth

Cara pembuatan :



Semua bahan ditimbang untuk 500 ml medium, dimasukkan ke dalam erlenmeyer dan dilarutkan dengan 500 ml air suling. Kemudian dicek pH 6,5 selanjutnya disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121° C, tekanan 1 atm selama 15 menit.

c. Medium GYPA + CaCO<sub>3</sub>

Cara pembuatan :

Semua bahan ditimbang untuk 500 ml medium, dimasukkan ke dalam erlenmeyer, dan dilarutkan dengan 500 ml air suling. Kemudian dicek pH 6,7-7 selanjutnya dipanaskan di atas penangas air. Kemudian disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121° C, tekanan 1 atm selama 15 menit.

### III.2.4 Peremajaan Bakteri

Biakan bakteri *Lactobacillus casei Shirota strain* diremajakan dengan cara diinokulasikan secara aseptis masing-masing 1 ose biakan bakteri pada medium MRS agar dan diinkubasi pada suhu 37° C selama 1x24 jam.

### III.2.5 Perbanyak Kultur Bakteri

Perbanyak kultur bakteri dibuat dengan cara diinokulasikan masing-masing 50 ose biakan bakteri *Lactobacillus casei Shirota strain* yang telah diremajakan ke dalam 500 ml MRS broth . Kemudian diinkubasi selama 1x24 jam selanjutnya sel bakteri dipisahkan dari cairan fermentasi dengan cara sentrifugasi menggunakan alat sentrifuse dingin dengan

suhu 4° C, pada 3000 rpm selama 30 menit. Selanjutnya endapan sel bakteri dicuci dengan larutan NaCl fisiologis. Kultur bakteri cair yang terbentuk dituang ke dalam cawan petri dengan ketebalan ± 1 cm, kemudian dibekukan di dalam lemari pendingin selama 24 jam. Setelah itu, sample diliofilisasi selama 24 jam.

### III.2.6 Liofilisasi dan Perhitungan Jumlah Bakteri Asam Laktat

Hasil liofilisasi sebanyak 1 gram diencerkan ke dalam 9 ml air suling steril, lalu dikocok sampai homogen dan diperoleh pengenceran  $10^{-1}$ , selanjutnya dilakukan pengenceran hingga tingkat pengenceran  $10^{-11}$ . Dari masing-masing 5 pengenceran ( $10^{-7}$  sampai dengan  $10^{-11}$ ) diambil 1 ml dan dimasukkan ke dalam cawan petri, kemudian dituang medium GYPA +  $\text{CaCO}_3$  sebanyak 10 ml, dihomogenkan selanjutnya dibiarkan memadat dan diinkubasi pada suhu 37° C selama 3 hari. Koloni bakteri yang terbentuk bulat dikelilingi oleh zona bening dan dihitung dengan metode "Standard Plate Count".

### III.2.7 Pembuatan Bahan Prebiotik

#### III.2.7.1 Pembuatan Tepung Kedelai

Sebanyak 20 g kedelai (*Glicine max* Linn) direndam selama 8 jam dengan air. Kemudian direbus selama 30 menit dan dihilangkan kulitnya. Kedelai dikeringkan di dalam oven suhu 60° C selama 18 jam sampai kering. Kedelai digiling dan diayak pada ayakan 100 mesh (13).

suhu 4° C, pada 3000 rpm selama 30 menit. Selanjutnya endapan sel bakteri dicuci dengan larutan NaCl fisiologis. Kultur bakteri cair yang terbentuk dituang ke dalam cawan petri dengan ketebalan ± 1 cm, kemudian dibekukan di dalam lemari pendingin selama 24 jam. Setelah itu, sample diliofilisasi selama 24 jam.

### **III.2.6 Liofilisasi dan Perhitungan Jumlah Bakteri Asam Laktat**

Hasil liofilisasi sebanyak 1 gram diencerkan ke dalam 9 ml air suling steril, lalu dikocok sampai homogen dan diperoleh pengenceran  $10^{-1}$ , selanjutnya dilakukan pengenceran hingga tingkat pengenceran  $10^{-11}$ . Dari masing-masing 5 pengenceran ( $10^{-7}$  sampai dengan  $10^{-11}$ ) diambil 1 ml dan dimasukkan ke dalam cawan petri, kemudian dituang medium GYPA + CaCO<sub>3</sub> sebanyak 10 ml, dihomogenkan selanjutnya dibiarkan memadat dan diinkubasi pada suhu 37° C selama 3 hari. Koloni bakteri yang terbentuk bulat dikelilingi oleh zona bening dan dihitung dengan metode "Standard Plate Count".

### **III.2.7 Pembuatan Bahan Prebiotik**

#### **III.2.7.1 Pembuatan Tepung Kedelai**

Sebanyak 20 g kedelai (*Glicine max* Linn) direndam selama 8 jam dengan air. Kemudian direbus selama 30 menit dan dihilangkan kulitnya. Kedelai dikeringkan di dalam oven suhu 60° C selama 18 jam sampai kering. Kedelai digiling dan diayak pada ayakan 100 mesh (13).

### III.2.7.2 Pembuatan Tepung Pisang

Pisang kepok (*Musa paradisiacal* Linn) mentah 10 buah dikukus selama 10 menit. Selanjutnya, pisang dikupas dan diiris tipis kemudian direndam dalam larutan natrium metabisulfit 2000 ppm selama 15 menit. Pisang ditiriskan dan dikeringkan di dalam oven suhu 60° C selama 18 jam. Kemudian pisang digiling dan diayak pada ayakan 100 mesh (16).

### III.2.8 Rancangan Formulasi Granul

Tabel 1. Komposisi Granul *Lactobacillus casei* Shirota strain

NO	NAMA BAHAN	FUNGSI BAHAN	FORMULA A	FORMULA B	FORMULA C
1.	<i>L. casei</i> Shirota strain	Zat aktif	1 g	1 g	1 g
2.	Cab-O-Sil	Adsorben	0,5 %	0,5 %	0,5 %
3.	Ac-Di-Sol	Penghancur	3 %	3 %	3 %
4.	Gelatin 10%	Pengikat	7 %	7 %	7 %
5.	Vanili	Pengaroma	0,05 %	0,05 %	0,05 %
6.	Tepung kedelai	Pengisi	add 10 g	-	-
7.	Laktosa	Pengisi	-	add 10 g	-
8.	Tepung pisang	Pengisi	-	-	add 10 g

Keterangan :

Formula A : Formula granul dengan bahan pengisi tepung kedelai.

Formula B : Formula granul dengan bahan pengisi laktosa.

Formula C : Formula granul dengan bahan pengisi tepung pisang.

### III.2.9 Pembuatan Larutan Pengikat Gelatin 10%

Sebanyak 10 g gelatin dilarutkan dalam 100 ml air panas. Dipanaskan di atas penangas air sambil diaduk perlahan hingga gelatin melarut. Larutan gelatin harus dipertahankan hangat sampai digunakan karena akan menjadi gel pada pendinginan.

### III.2.10 Pembuatan Granul *Lactobacillus casei* Shirota strain

Granul *Lactobacillus casei* Shirota strain dibuat dengan menggunakan metode granulasi basah, yaitu 1 g serbuk kultur bakteri dicampurkan dengan 0,05 g Cab-O-Sil hingga homogen, kemudian dicampur dengan 0,3 g Ac-Di-Sol dan ditambahkan bahan pengisi sampai 10 g, selanjutnya sedikit demi sedikit ditambahkan cairan gelatin 10% hingga terbentuk massa yang dapat dikepal. Massa yang terbentuk digranulasi dengan menggunakan pengayak nomor 14 dan dikeringkan di dalam lemari pengering granul dengan suhu  $\pm 40-50^{\circ}\text{C}$  sampai diperoleh kelembaban  $\leq 3\%$ . Setelah itu, granul kering yang terbentuk diayak dengan menggunakan pengayak nomor 16 dan ditambahkan vanili. Granul yg dihasilkan mempunyai ukuran partikel  $\pm 1,18\text{ mm}$ .

### III.2.11 Evaluasi Granul

#### 1. Kadar Air

##### a. Uji susut pengeringan (Loss On Drying)

Timbang bobot granul basah. Setelah dikeringkan, timbang kembali bobot granul kering. Hitung %LOD dengan menggunakan rumus sebagai berikut :

$$\% \text{LOD} = \frac{\text{Bobot sampel basah} - \text{Bobot sampel kering}}{\text{Bobot sampel basah}} \times 100\%$$

b. Uji kandungan kelembaban (Mouisture Content)

Timbang bobot granul basah. Setelah dikeringkan, timbang kembali bobot granul kering. Hitung %MC dengan menggunakan rumus sebagai berikut :

$$\%MC = \frac{\text{Bobot sampel basah} - \text{Bobot sampel kering}}{\text{Bobot sampel kering}} \times 100\%$$

2. Uji Sudut Istirahat

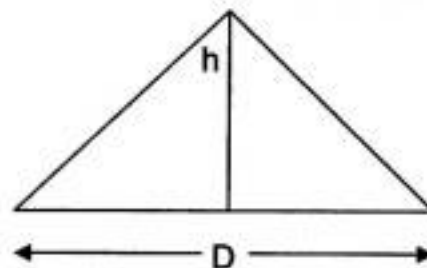
Granul *Lactobacillus casei Shirota strain* yang telah jadi ditimbang sebanyak 10 gram, dimasukkan ke dalam corong yang lubang bawahnya ditutup, kemudian diratakan permukaannya. Pada bagian corong diberi alas. Setelah itu tutup bawah corong dibuka sehingga granul dapat mengalir ke atas meja yang telah dilapisi kertas grafik. Diukur tinggi dan jari-jari dasar timbunan granul yang terbentuk. Sudut istirahat dihitung dengan rumus :

$$\tan \alpha = \frac{2h}{D}$$

dimana  $\alpha$  = sudut istirahat

$h$  = tinggi timbunan granul

$D$  = diameter timbunan granul



3. Uji Kecepatan Alir

Pengujian dilakukan seperti pada pengujian sudut istirahat dan ditentukan dengan menggunakan stopwatch. Dihitung pada saat granul mulai mengalir hingga granul berhenti mengalir.

Kecepatan alir dihitung dengan rumus :

$$\text{Kecepatan alir} = \frac{\text{Bobot sampel}}{\text{Waktu alir}}$$

#### 4. Penetapan Bobot Jenis Sejati

Pengujian bobot jenis sejati dilakukan dengan cara ditimbang piknometer 25 ml yang kosong (a), kemudian piknometer diisi dengan paraffin cair dan ditimbang kembali (b).

$$b_j \text{ parafin} = \frac{b - a}{25}$$

Granul *Lactobacillus casei* Shirota strain sebanyak 1 gram dimasukkan ke dalam piknometer kosong kemudian ditimbang (c), lalu parafin cair ditambahkan ke dalamnya hingga penuh dan ditimbang kembali (d).

Bobot jenis sejati dapat dihitung dengan rumus sebagai berikut :

$$b_j \text{ sejati} = \frac{(c - a) \times b_j \text{ parafin cair}}{(c + b) - (a + d)}$$

#### 5. Uji Bobot Jenis Nyata dan Uji Bobot Jenis Mampat

Sebanyak 10 gram granul dimasukkan ke dalam gelas ukur 50 ml dan dicatat volumenya ( $V_0$ ), kemudian dilakukan pengetukan dengan alat dan dicatat volume ketukan ke-10, ke-50, dan ke-500, lalu dilakukan perhitungan sebagai berikut :

$$\text{Bobot jenis nyata} = \frac{\text{Bobot granul}}{\text{Volume awal } (V_0)}$$

$$\text{Bobot jenis mampat} = \frac{\text{Bobot granul}}{\text{Volume mampat}}$$

## 6. Uji Porositas

Dari data uji bobot jenis hitung porositas dengan menggunakan rumus sebagai berikut :

$$\text{Porositas} = \left( 1 - \frac{b_{jmampat}}{b_{jsejati}} \right) \times 100 \%$$

### III.2.12 Perhitungan Jumlah Bakteri Asam Laktat Setelah Proses Granulasi

Jumlah bakteri asam laktat granul *Lactobacillus casei* Shirota strain dihitung dengan menggunakan metode "Standard Plate Count" yang sama seperti pada perhitungan jumlah bakteri asam laktat hasil liofilisasi.

### III.2.13 Perhitungan Jumlah Bakteri Asam Laktat Sebelum dan Sesudah Penyimpanan

Jumlah bakteri asam laktat granul *Lactobacillus casei* Shirota strain dihitung sebelum penyimpanan dan setelah penyimpanan dengan masa penyimpanan yang bervariasi yaitu selama 1 minggu, 2 minggu, 3 minggu dan 4 minggu. Dihitung dengan menggunakan metode "Standard Plate Count" yang sama seperti pada perhitungan jumlah bakteri asam laktat sebelum dan setelah granulasi.

### III.2.14 Pengumpulan Data

Data yang diperoleh berupa jumlah bakteri asam laktat dan evaluasi granul dikumpulkan dan di tabulasi.



### **III.2.15 Analisis Data**

Data dianalisis dengan menggunakan rancangan faktorial.

### **III.2.16 Pembahasan Hasil Penelitian**

Pembahasan diuraikan berdasarkan hasil data yang diperoleh pada penelitian dan hasil analisis.

### **III.2.17 Pengambilan Kesimpulan**

Kesimpulan diambil berdasarkan pembahasan.

## BAB IV

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### IV.1 Hasil Penelitian

Dari penelitian yang dilaksanakan diperoleh hasil sebagai berikut :

##### IV.1.1 Jumlah Bakteri Asam Laktat

Hasil perhitungan jumlah *Lactobacillus casei Shirota strain* pada serbuk kultur hasil liofilisasi adalah  $4,9 \times 10^{11}$  koloni/g sedangkan jumlah *Lactobacillus casei Shirota strain* pada granul sebelum dan setelah penyimpanan masing-masing selama 1 minggu, 2 minggu, 3 minggu dan 4 minggu pada suhu  $28^{\circ}$ -  $30^{\circ}$  C adalah sebagai berikut :

Tabel 2. Jumlah Rata-rata Bakteri *Lactobacillus casei Shirota strain*

Lama penyimpanan (waktu)	Jumlah bakteri (koloni/g)		
	A	B	C
0 hari	$9,2 \times 10^8$	$8,9 \times 10^8$	$8,8 \times 10^8$
1 minggu	$6,7 \times 10^8$	$5,8 \times 10^8$	$6,5 \times 10^8$
2 minggu	$6,2 \times 10^8$	$5,9 \times 10^8$	$6,1 \times 10^8$
3 minggu	$3,6 \times 10^8$	$3,7 \times 10^8$	$3,8 \times 10^8$
4 minggu	$3,2 \times 10^8$	$3,1 \times 10^8$	$3,1 \times 10^8$

Keterangan : A = Formula granul dengan bahan pengisi tepung kedelai

B = Formula granul dengan bahan pengisi laktosa

C = Formula granul dengan bahan pengisi tepung pisang

Hasil perhitungan jumlah bakteri *Lactobacillus casei Shirota strain* selengkapnya dapat dilihat pada tabel 4 sampai 7.

#### IV.1.2 Evaluasi Granul

Hasil evaluasi granul *Lactobacillus casei Shirota strain* yang meliputi uji kadar air, uji sudut istirahat, uji kecepatan alir, uji bobot jenis sejati, uji bobot jenis nyata, uji bobot jenis mampat dan uji porositas adalah sebagai berikut :

Tabel 3. Hasil Evaluasi Granul *Lactobacillus casei Shirota strain*

No.	Evaluasi granul <i>L. casei</i>  <i>Shirota strain</i>	Hasil rata-rata		
		A	B	C
1.	Uji Kadar air	2,82 %	2,66 %	2,74 %
		2,90 %	2,73 %	2,81 %
2.	Uji Kecepatan Alir	5,58 g/detik	5,40 g/detik	5,55 g/detik
3.	Uji Sudut Istirahat	20,23°	20,05°	20,3°
4.	Uji Bobot Jenis Sejati	1,53 g/ml	1,24 g/ml	1,39 g/ml
5.	Uji Bobot Jenis Nyata	0,43 g/ml	0,43 g/ml	0,43 g/ml
6.	Uji Bobot Jenis Mampat	V <sub>10</sub> =	V <sub>10</sub> =	V <sub>10</sub> =
		0,46 g/ml	0,46 g/ml	0,48 g/ml
		V <sub>50</sub> =	V <sub>50</sub> =	V <sub>50</sub> =
		0,48 g/ml	0,48 g/ml	0,48 g/ml
		V <sub>500</sub> =	V <sub>500</sub> =	V <sub>500</sub> =
		0,5 g/ml	0,49 g/ml	0,49 g/ml
7.	Uji Porositas	68 %	60 %	65 %

Hasil selengkapnya dapat dilihat pada tabel 8 sampai 17.

#### IV.2 Pembahasan

*Lactobacillus casei Shirota strain* merupakan salah satu kelompok bakteri probiotik yang memberikan efek menguntungkan bagi kesehatan

apabila dikonsumsi dalam jumlah yang cukup. Alasan untuk membuat suatu produk minuman probiotik dalam bentuk granul adalah bahwa produk minuman probiotik dalam bentuk cairan tidak tahan penyimpanan dalam jangka waktu yang lama sehingga cita rasa dari minuman probiotik tersebut akan berubah, yaitu cenderung asam dan berbau tidak enak.

Untuk itu agar dapat disimpan lebih lama dan mudah untuk digunakan maka dibuat dalam bentuk granul dengan penambahan prebiotik diantaranya tepung kedelai, laktosa dan tepung pisang yang diharapkan dapat meningkatkan viabilitas dari *Lactobacillus casei* Shirota strain. Ketiga bahan prebiotik ini merupakan karbohidrat yang tidak dapat dicerna sempurna oleh lambung tetapi dapat dicerna dengan sempurna oleh bakteri probiotik dan digunakan sebagai nutrisi oleh bakteri tersebut.

Di kolon, bahan prebiotik ini akan difermentasikan oleh bakteri probiotik menghasilkan asam lemak rantai pendek dalam bentuk asetat, propionat, butirat, hidrogen sulfida, karbon dioksida, metan, laktat, piruvat, suksinat dan format. Oleh bakteri probiotik asam lemak rantai pendek tersebut dipakai sebagai sumber energi sedangkan asetat, propionat dan butirat yang tidak dimetabolisme dikolon akan diabsorpsi dari kolon dibawa melalui sirkulasi darah menuju ke hati untuk dimetabolisme. Selanjutnya dari hati melalui sistem sirkulasi dibawa menuju berbagai jaringan tubuh (2).

Sebelum dilakukan formulasi, kultur bakteri cair diliofilisasi untuk menghasilkan serbuk kultur. Liofilisasi adalah proses pengeringan pelarut,

apabila dikonsumsi dalam jumlah yang cukup. Alasan untuk membuat suatu produk minuman probiotik dalam bentuk granul adalah bahwa produk minuman probiotik dalam bentuk cairan tidak tahan penyimpanan dalam jangka waktu yang lama sehingga cita rasa dari minuman probiotik tersebut akan berubah, yaitu cenderung asam dan berbau tidak enak.

Untuk itu agar dapat disimpan lebih lama dan mudah untuk digunakan maka dibuat dalam bentuk granul dengan penambahan prebiotik diantaranya tepung kedelai, laktosa dan tepung pisang yang diharapkan dapat meningkatkan viabilitas dari *Lactobacillus casei* Shirota strain. Ketiga bahan prebiotik ini merupakan karbohidrat yang tidak dapat dicerna sempurna oleh lambung tetapi dapat dicerna dengan sempurna oleh bakteri probiotik dan digunakan sebagai nutrisi oleh bakteri tersebut.

Di kolon, bahan prebiotik ini akan difermentasikan oleh bakteri probiotik menghasilkan asam lemak rantai pendek dalam bentuk asetat, propionat, butirrat, hidrogen sulfida, karbon dioksida, metan, laktat, piruvat, suksinat dan format. Oleh bakteri probiotik asam lemak rantai pendek tersebut dipakai sebagai sumber energi sedangkan asetat, propionat dan butirrat yang tidak dimetabolisme dikolon akan diabsorpsi dari kolon dibawa melalui sirkulasi darah menuju ke hati untuk dimetabolisme. Selanjutnya dari hati melalui sistem sirkulasi dibawa menuju berbagai jaringan tubuh (2).

Sebelum dilakukan formulasi, kultur bakteri cair diliofilisasi untuk menghasilkan serbuk kultur. Liofilisasi adalah proses pengeringan pelarut,

biasanya air, pertama-tama pelarut dibekukan dan kemudian dihilangkan melalui sublimasi dalam ruang vakum (7). Berdasarkan hasil perhitungan setelah liofilisasi diperoleh jumlah bakteri *Lactobacillus casei* *Shirota strain* dalam serbuk kultur bakteri adalah  $4,9 \times 10^{11}$  koloni/g. Untuk itu, pada pembuatan granul digunakan serbuk kultur bakteri *Lactobacillus casei* *Shirota strain* sebanyak 1 g pada masing-masing formula sebagai zat aktif.

Pada formulasi granul, digunakan 0,05 g Cab-O-Sil sebagai adsorben. Karena serbuk kultur bakteri hasil liofilisasi higroskopis maka dengan adanya adsorben dapat membantu mengurangi kadar air yang terkandung di dalam serbuk kultur bakteri sehingga granul menjadi lebih baik.

Digunakan 0,3 g Ac-Di-Sol sebagai penghancur. Bahan penghancur ditambahkan untuk memudahkan pecahnya granul di dalam cairan pencernaan. Penghancur berfungsi menarik air ke dalam granul sehingga granul mengembang dan menyebabkan granul pecah.

Bahan pengikat yang digunakan pada penelitian ini adalah bahan pengikat yang berasal dari alam yaitu gelatin 10%. Massa yang terbentuk setelah penambahan larutan pengikat digranulasi dengan menggunakan pengayak nomor 14 dan dikeringkan di dalam lemari pengering granul dengan suhu  $\pm 40-50^\circ \text{C}$  sampai diperoleh kelembaban  $\leq 3\%$ . Setelah itu, granul kering yang terbentuk diayak dengan menggunakan pengayak nomor 16 dan ditambahkan vanili. Granul yg dihasilkan mempunyai ukuran partikel  $\pm 1,18 \text{ mm}$ .

Setelah proses granulasi, dilakukan perhitungan jumlah bakteri *Lactobacillus casei Shirota strain* yang terkandung di dalam granul. Hasil perhitungan jumlah bakteri *Lactobacillus casei Shirota strain* dalam granul pada 0 hari adalah  $9,2 \times 10^8$  untuk formula granul dengan bahan pengisi tepung kedelai,  $8,9 \times 10^8$  untuk formula granul dengan bahan pengisi laktosa dan  $8,8 \times 10^8$  untuk formula granul dengan bahan pengisi tepung pisang, ini memperlihatkan terjadinya penurunan jumlah bakteri jika dibandingkan dengan jumlah bakteri *Lactobacillus casei Shirota strain* hasil liofilisasi. Hal ini terjadi mungkin disebabkan oleh proses granulasi dengan berkurangnya kadar air sehingga sebagian bakteri mengalami kematian.

Evaluasi granul yang dilakukan meliputi uji kadar air, uji kecepatan alir, uji sudut istirahat, uji bobot jenis sejati, uji bobot jenis nyata, uji bobot jenis mampat dan uji porositas (19).

#### 1. Uji kadar air

Evaluasi yang pertama dilakukan adalah menentukan kadar air, berupa susut pengeringan (%LOD) dan kandungan kelembaban (%MC). Susut pengeringan diperoleh dengan cara menghitung presentase kadar air yang terkandung di dalam granul kemudian dibagi dengan bobot basah granul. Dari hasil evaluasi %LOD untuk formula granul A; 2,82 % untuk formula granul B 2,66% dan 2,74 % untuk formula granul C. Susut pengeringan yang memenuhi syarat adalah 0% - 100% (26).

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60  
61  
62  
63  
64  
65  
66  
67  
68  
69  
70  
71  
72  
73  
74  
75  
76  
77  
78  
79  
80  
81  
82  
83  
84  
85  
86  
87  
88  
89  
90  
91  
92  
93  
94  
95  
96  
97  
98  
99  
100



Evaluasi kadar air yang kedua adalah kandungan kelembaban diperoleh dengan cara menghitung presentase kadar air yang terkandung di dalam granul kemudian dibagi dengan bobot kering granul. Kandungan kelembaban yang memenuhi syarat adalah  $\leq 3\%$  (7). Dari hasil evaluasi ternyata semua formula granul memenuhi syarat uji kadar air yaitu 2,90 % untuk formula granul A; 2,73 % untuk formula granul B dan 2,81 % untuk formula granul C. Hal ini disebabkan karena pada waktu proses pengeringan dilakukan kontrol terhadap bobot kering granul. Kandungan kelembaban yang rendah yang diperoleh dalam waktu yang tidak lama memperlihatkan bahwa kemampuan bahan pengadsorpsi yang baik sehingga mampu mengadsorpsi air dari granul. Besar kecilnya kadar air dapat mempengaruhi kecepatan alir dari granul. Semakin rendah kadar air granul, maka kecepatan alir granul semakin tinggi. Sebaliknya kandungan kelembaban yang tinggi dapat menyebabkan ketidakstabilan dari granul.

## 2. Uji kecepatan alir

Kecepatan alir dari granul berhubungan dengan proses pengempaan untuk menjadi tablet. Keseragaman bobot tablet tergantung dari kecepatan alir granul masuk ke dalam mesin cetak tablet, yang pada akhirnya mempengaruhi keseragaman dosis. Kecepatan alir adalah bobot ampel dibagi dengan waktu alir. Berdasarkan hasil evaluasi, maka semua formula granul memenuhi syarat yaitu 5,58 g/detik untuk formula granul A; 5,40 g/detik untuk formula granul B dan 5,55 g/detik untuk formula granul C. Semakin besar kecepatan alir granul, maka semakin baik sifat aliran

granul tersebut. Syarat kecepatan alir 10 – 4 g/detik mempunyai daya alir yang baik sedangkan 4 – 1,6 g/detik mempunyai daya alir yang rendah (28).

### 3. Uji sudut istirahat

Sudut istirahat merupakan suatu cara untuk mengukur tahanan terhadap gerakan partikel sehingga dapat digunakan untuk memprediksi kecepatan alir dari granul karena lebih relevan. Sudut istirahat  $20^{\circ}$ - $30^{\circ}$  umumnya mengindikasikan bahwa bahan tersebut mempunyai daya alir yang baik, tetapi sudut istirahat  $\geq 40^{\circ}$  mengindikasikan bahwa bahan tersebut memiliki daya alir yang rendah (26). Berdasarkan hasil evaluasi maka semua formula granul memenuhi syarat sudut istirahat yaitu  $20,23^{\circ}$  untuk formula granul A;  $20,05^{\circ}$  untuk formula granul B dan  $20,3^{\circ}$  untuk formula granul C. Hasil ini menunjukkan granul mengalir bebas.

### 4. Uji bobot jenis sejati

Bobot jenis (bj) sejati adalah bobot granul dibagi dengan volume sampel tanpa ruang antar partikel dan ruang intra partikel. Hal ini disebabkan karena pada pengukuran bj sejati ke dalam sampel ditambahkan cairan yang tidak melarutkan sampel tetapi dapat masuk ke dalam ruang intra partikel. Penentuan bj sejati bertujuan untuk menentukan apakah granul mengapung, melayang atau tenggelam dalam suatu pelarut. Semua formula granul memiliki bj sejati  $> 1$ . Hal ini menunjukkan bahwa granul tenggelam dalam air karena bj sejati granul lebih besar dari bj air. Berdasarkan evaluasi, bobot jenis sejati untuk

formula granul A adalah 1,54 g/ml; 1,25 g/ml untuk formula granul B dan 1,40 g/ml untuk formula granul C. Perbedaan ini mungkin disebabkan oleh adanya perbedaan jumlah ruang kosong antar partikel dan intra partikel yang dimiliki oleh masing-masing granul. Makin tinggi  $b_j$  sejati granul maka makin banyak ruang kosong intra partikel yang dimiliki oleh granul.

#### 5. Uji bobot jenis nyata

Bobot jenis ( $b_j$ ) nyata rata-rata granul adalah 0,43 g/ml untuk semua formula.  $B_j$  nyata merupakan hasil bagi antara bobot sampel dengan volume sampel termasuk ruang antar partikel dan ruang intra partikel.

#### 6. Uji bobot jenis mampat

Bobot jenis ( $b_j$ ) mampat untuk semua formula bervariasi.  $B_j$  mampat merupakan hasil bagi antara bobot sampel dengan volume sampel termasuk ruang intra partikel tetapi tanpa ruang antar partikel. Ruang antar partikel dapat dikurangi, bahkan dihilangkan dengan dilakukannya pengetukan hingga diperoleh bobot mampat yang konstan.  $B_j$  mampat untuk formula granul A memperlihatkan hasil antara 0,46 g/ml pada  $V_{10}$ ; 0,48 g/ml pada  $V_{50}$ ; 0,5 g/ml pada  $V_{500}$ ; untuk formula granul B hasilnya adalah 0,46 g/ml pada  $V_{10}$ ; 0,48 g/ml pada  $V_{50}$ ; 0,49 g/ml pada  $V_{500}$ , sedangkan untuk formula granul C hasilnya adalah 0,48 g/ml pada  $V_{10}$ ; 0,48 g/ml pada  $V_{50}$  dan 0,49 g/ml pada  $V_{500}$ .

## 7. Uji porositas

Evaluasi yang terakhir adalah penentuan porositas yaitu, uji ruang kosong antar partikel yang dapat digunakan untuk menentukan kelarutan. Semakin besar porositas, maka semakin besar ruang kosong antar granul dan semakin besar pula volume dari granul. Syarat uji porositas 10 -90 % (17). Berdasarkan evaluasi, formula granul A memperlihatkan hasil 68 %; untuk formula granul B adalah 60 % dan untuk formula granul C adalah 65 %. Rongga-rongga kosong partikel dapat membantu proses disintegrasi dari granul karena cairan pencernaan dapat masuk sehingga granul mengembang dan akhirnya pecah. Proses ini menentukan kelarutan selanjutnya dari obat dan tercapainya efek terapi yang diinginkan. Salah satu faktor yang mempengaruhi porositas suatu granul adalah ukuran partikel. Apabila granul memiliki bentuk yang bulat dan memiliki ukuran partikel yang hampir sama maka porositasnya akan semakin berkurang.

## 3. Perhitungan jumlah bakteri asam laktat setelah penyimpanan

Pada penelitian ini juga dilakukan perbandingan perhitungan jumlah bakteri asam laktat hasil liofilisasi dengan semua formula granul yang melewati masa penyimpanan selama 0 hari, 1 minggu, 2 minggu, 3 minggu dan 4 minggu. Hal ini bertujuan untuk melihat apakah ada pengaruh dari variasi bahan pengisi dan metode granulasi yang dilakukan terhadap jumlah bakteri *Lactobacillus casei Shirota strain* karena bakteri tersebut merupakan salah satu kandungan granul yang memiliki khasiat pengobatan.

## 7. Uji porositas

Evaluasi yang terakhir adalah penentuan porositas yaitu, uji ruang kosong antar partikel yang dapat digunakan untuk menentukan kelarutan. Semakin besar porositas, maka semakin besar ruang kosong antar granul dan semakin besar pula volume dari granul. Syarat uji porositas 10 -90 % (17). Berdasarkan evaluasi, formula granul A memperlihatkan hasil 68 %; untuk formula granul B adalah 60 % dan untuk formula granul C adalah 65 %. Rongga-rongga kosong partikel dapat membantu proses disintegrasi dari granul karena cairan pencernaan dapat masuk sehingga granul mengembang dan akhirnya pecah. Proses ini menentukan kelarutan selanjutnya dari obat dan tercapainya efek terapi yang diinginkan. Salah satu faktor yang mempengaruhi porositas suatu granul adalah ukuran partikel. Apabila granul memiliki bentuk yang bulat dan memiliki ukuran partikel yang hampir sama maka porositasnya akan semakin berkurang.

## 3. Perhitungan jumlah bakteri asam laktat setelah penyimpanan

Pada penelitian ini juga dilakukan perbandingan perhitungan jumlah bakteri asam laktat hasil liofilisasi dengan semua formula granul yang melewati masa penyimpanan selama 0 hari, 1 minggu, 2 minggu, 3 minggu dan 4 minggu. Hal ini bertujuan untuk melihat apakah ada pengaruh dari variasi bahan pengisi dan metode granulasi yang dilakukan terhadap jumlah bakteri *Lactobacillus casei* Shirota strain karena bakteri tersebut merupakan salah satu kandungan granul yang memiliki khasiat pengobatan.

Berdasarkan hasil perhitungan terlihat bahwa setelah dilakukan formulasi, jumlah bakteri *Lactobacillus casei Shirota strain* menurun. Dimana viabilitas bakteri *Lactobacillus casei Shirota strain* pada masing-masing formula granul yang dihasilkan berbeda-beda tetapi masih memenuhi syarat jumlah bakteri asam laktat yang dapat memberikan efek probiotik yaitu sebanyak  $10^6$ - $10^8$  koloni/g. Dari hasil yang diperoleh maka dapat dilihat bahwa proses granulasi dapat menyebabkan berkurangnya jumlah *Lactobacillus casei Shirota strain*. Selain itu, berkurangnya kadar air pada saat liofilisasi juga merupakan salah satu penyebab berkurangnya jumlah bakteri yang dapat tumbuh. Namun dengan adanya Variasi bahan pengisi yang digunakan dalam hal ini merupakan bahan bersifat prebiotik maka bahan pengisi tersebut dapat menjadi substrat yang membantu aktivitas dari *Lactobacillus casei Shirota strain*. Sehingga jumlahnya tidak mengalami penurunan secara drastis hingga mencapai kolon untuk memberikan efek positif bagi kesehatan manusia.

Hasil uji statistika dengan menggunakan rancangan faktorial menunjukkan bahwa variasi bahan pengisi memberikan pengaruh yang berbeda tidak nyata, artinya variasi bahan pengisi tidak berpengaruh terhadap viabilitas *Lactobacillus casei Shirota strain*. Hal ini ditunjukkan oleh nilai F hitung lebih kecil dari F tabel baik pada taraf 1% ( $0,2015 < 3,36$ ) maupun pada taraf 5% ( $0,2015 < 3,68$ ).

## BAB V

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### V.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil analisis dan pembahasan maka dapat disimpulkan :

1. Tepung kedelai, laktosa dan tepung pisang dapat digunakan sebagai bahan pengisi pada granul *Lactobacillus casei Shirota strain*.
2. Variasi bahan pengisi tidak mempengaruhi viabilitas *Lactobacillus casei Shirota strain*.

#### V.2 Saran

Disarankan untuk memformulasi granul *Lactobacillus casei Shirota strain* dengan menggunakan metode lain, misalnya granulasi kering.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Hidayat, N. Padaga, M, Suhartini, S. *Mikrobiologi Industri, Edisi I*. Andi. Yogyakarta. 2006. hal. 152
2. Surono, S.I. *Probiotik, Susu Fermentasi dan Kesehatan*. PT. Tri Cipta Karya. Jakarta. 2004. hal. 3, 84,181
3. Winarno, F.G. *Kimia Pangan dan Gizi*. PT. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta. hal 248-253
4. Yulinery, T. Yulianto, E. Nurhidayat, N. *Uji Fisiologis Probiotik Lactobacillus sp. Mar 8 yang Telah Dienkapsulasi dengan Menggunakan Spray Dryer untuk Menurunkan Kolesterol*. Biodiversitas. Vol.7. hal. 3-10
5. Hardiningsih, R. Napitupulu, N.R. Yulinery, T. *Isolasi dan Uji Resistensi Beberapa Isolat Lactobacillus pada pH Rendah*. Biodiversitas. Vol.7. hal. 1-6
6. Bidasari. *Uji Viabilitas Bakteri Asam Laktat Dalam Granul "Soyghurt" Dengan Variasi Suhu dan Lama Penyimpanan*. Skripsi Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin. Makassar. 2006. hal. 32
7. Swarbick, J. and Boylan, J.C. *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology*. Volume 7. Marcel Dekker, Inc. New York. 1988. hal. 121



8. Ansel, H.C. *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi*. Terjemahan oleh Farida Ibrahim, dkk. Universitas Indonesia Press. Jakarta. 1995. hal. 212
9. Lea, T, editor. Biokapsul [monograph on the Internet]. Jakarta : BlogPress ; 2009 [dikutip 27 Juli 2009]. Available from : <http://blogpress.library.com/2009/03/biokapsul-ii.html>
10. Lay, W.B. *Analisis Mikroba di Laboratorium, Edisi I*. PT. Raja Grafindo Persada. Jakarta. 1994. hal. 78-79
11. Prangdimurti, E. *Pribiotik dan Efek Perlindungannya terhadap Kanker Kolon*. IPB Press. Bogor. 2001. hal 18
12. Winarno. *Probiotik dan Keamanan Pangan*. PT. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta. 1997. hal 161
13. Koswara, S. *Teknologi Pengolahan Kedelai : Menjadi Makanan Bermutu*. Pustaka Sinar Harapan. Jakarta. 1995. hal 14-15, 51-52
14. Poedjiadi, A. *Dasar-dasar Biokimia*. UI Press. Jakarta. 1994. hal 33-35
15. Sumardjo, D.Drs. *Pengantar Kimia*. EGC Press. Semarang. 2009. hal 206-236
16. Suprpti, L. *Aneka Olahan Pisang*. Kanisus. Yogyakarta. 2005. hal 16
17. Parrot, E.L. *Fundamental of Pharmaceutical Tecnology*. Burgess Publishing Company. Iowa. 1978. hal 17,64
18. Buchanan, R.E., Gibson, N.S. *Bergey's: Manual of Determinative Bacteriology*. 8 th Edition. The Williams Company. Baltimore. 1974. hal 503-504, 583-584

19. Kibbe, A.H. *Handbook of Pharmaceutical Excipients*. 3<sup>rd</sup> Edition. American Pharmaceutical Association, Washington DC. hal 143, 147
20. Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan. *Farmakope Indonesia Edisi III*. hal 404
21. Tjitrosoepomo, G. *Taksonomi Tumbuhan (Spermatophyta)*. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta. 99, 192, 204, 207, 384, 443-444
22. Mudjajanto, E.S., Kusuma, F.R. *Susu Kedelai, Susu Nabati yang Menyehatkan*. PT. Agro Media Pustaka. Jakarta. 2005. hal 1-4
23. Tjitrosoepomo, G. *Taksonomi Tumbuhan Obat-obatan*. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta. 1994. hal 163, 190, 438
24. Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan. *Metode Analisis PPOMN Mikrobiologi*. Pusat Pengujian Obat dan Makanan Nasional Badan POM. Jakarta. 2000. hal 57-59
25. Djide Natsir. M., Sartini. *Analisis Mikrobiologi Farmasi*. Laboratorium Mikrobiologi Farmasi. Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin. Makassar. 2008. hal 121-131
26. Lachman, L. Herbert, A.L. Joseph, L.K. *Teori dan Praktek Farmasi Industri, Edisi III*. Terjemahan oleh Siti Suyatmi dan Iis Aisyah. Universitas Indonesia Press. Jakarta. 1989. hal. 111, 140-147
27. Mattjik, A.A. Sumertajaya, M.I. *Perancangan Percobaan, Edisi 2*. IPB Press. Bogor. 2002. hal 101-121
28. Aulton, M.E. *Pharmaceutics : The Science Of Dossage Form Design*. Churchill Livingstone, Inc, New York. 1988. hal 600-615, 647

Tabel 4. Hasil Perhitungan Bakteri Asam Laktat dalam Serbuk Kultur Bakteri *Lactobacillus casei* Shirota strain

Replikasi	Pengenceran					Jumlah BAL (koloni/g)
	$10^{-7}$	$10^{-8}$	$10^{-9}$	$10^{-10}$	$10^{-11}$	
1.	TBUD	TBUD	185	53	51	$5,3 \times 10^{11}$
2.	TBUD	TBUD	187	44	48	$4,4 \times 10^{11}$
<b>Rata-rata</b>						$4,9 \times 10^{11}$

Keterangan : TBUD = Terlalu Banyak Untuk Dihitung

Tabel 5. Hasil Perhitungan Bakteri Asam Laktat dalam Formula Granul A (Bahan Pengisi Tepung Kedelai) yang Disimpan pada Suhu  $28^{\circ}$ - $30^{\circ}$  C (Suhu Kamar)

Lama Penyimpanan	Replikasi	Pengenceran			Jumlah BAL (koloni/g)
		$10^{-6}$	$10^{-7}$	$10^{-8}$	
0 Hari	1.	294	99	61	$9,9 \times 10^6$
	2.	211	85	73	$8,5 \times 10^6$
<b>Rata-rata</b>					$9,2 \times 10^6$
1 Minggu	1.	204	81	59	$8,1 \times 10^6$
	2.	172	52	58	$5,2 \times 10^6$
<b>Rata-rata</b>					$6,7 \times 10^6$
2 Minggu	1.	108	68	55	$6,8 \times 10^6$
	2.	202	57	53	$5,7 \times 10^6$
<b>Rata-rata</b>					$6,2 \times 10^6$
3 Minggu	1.	100	38	36	$3,8 \times 10^6$
	2.	98	35	33	$3,5 \times 10^6$
<b>Rata-rata</b>					$3,6 \times 10^6$
4 Minggu	1.	87	34	32	$3,4 \times 10^6$
	2.	82	31	30	$3,1 \times 10^6$
<b>Rata-rata</b>					$3,2 \times 10^6$

Tabel 4. Hasil Perhitungan Bakteri Asam Laktat dalam Serbuk Kultur Bakteri *Lactobacillus casei* Shirota strain

Replikasi	Pengenceran					Jumlah BAL (koloni/g)
	$10^{-7}$	$10^{-8}$	$10^{-9}$	$10^{-10}$	$10^{-11}$	
1.	TBUD	TBUD	185	53	51	$5,3 \times 10^{11}$
2.	TBUD	TBUD	187	44	48	$4,4 \times 10^{11}$
<b>Rata-rata</b>						$4,9 \times 10^{11}$

Keterangan : TBUD = Terlalu Banyak Untuk Dihitung

Tabel 5. Hasil Perhitungan Bakteri Asam Laktat dalam Formula Granul A (Bahan Pengisi Tepung Kedelai) yang Disimpan pada Suhu  $28^{\circ}$ - $30^{\circ}$  C (Suhu Kamar)

Lama Penyimpanan	Replikasi	Pengenceran			Jumlah BAL (koloni/g)
		$10^{-6}$	$10^{-7}$	$10^{-8}$	
0 Hari	1.	294	99	61	$9,9 \times 10^8$
	2.	211	85	73	$8,5 \times 10^8$
<b>Rata-rata</b>					$9,2 \times 10^8$
1 Minggu	1.	204	81	59	$8,1 \times 10^8$
	2.	172	52	58	$5,2 \times 10^8$
<b>Rata-rata</b>					$6,7 \times 10^8$
2 Minggu	1.	108	68	55	$6,8 \times 10^8$
	2.	202	57	53	$5,7 \times 10^8$
<b>Rata-rata</b>					$6,2 \times 10^8$
3 Minggu	1.	100	38	36	$3,8 \times 10^8$
	2.	98	35	33	$3,5 \times 10^8$
<b>Rata-rata</b>					$3,6 \times 10^8$
4 Minggu	1.	87	34	32	$3,4 \times 10^8$
	2.	82	31	30	$3,1 \times 10^8$
<b>Rata-rata</b>					$3,2 \times 10^8$

Tabel 6. Hasil Perhitungan Bakteri Asam Laktat dalam Formula Granul B (Bahan Pengisi Laktosa) yang Disimpan pada Suhu 28°-30° C (Suhu Kamar)

Lama Penyimpanan	Replikasi	Pengenceran			Jumlah BAL (koloni/g)
		10 <sup>-6</sup>	10 <sup>-7</sup>	10 <sup>-8</sup>	
0 Hari	1.	232	91	55	9,1 x 10 <sup>5</sup>
	2.	205	87	68	8,7 x 10 <sup>5</sup>
<b>Rata-rata</b>					8,9 x 10 <sup>5</sup>
1 Minggu	1.	107	73	69	7,3 x 10 <sup>5</sup>
	2.	187	52	50	5,2 x 10 <sup>5</sup>
<b>Rata-rata</b>					6,2 x 10 <sup>5</sup>
2 Minggu	1.	195	60	54	6,0 x 10 <sup>5</sup>
	2.	186	57	45	5,7 x 10 <sup>5</sup>
<b>Rata-rata</b>					5,9 x 10 <sup>5</sup>
3 Minggu	1.	97	39	38	3,9 x 10 <sup>5</sup>
	2.	88	35	33	3,5 x 10 <sup>5</sup>
<b>Rata-rata</b>					3,7 x 10 <sup>5</sup>
4 Minggu	1.	85	31	30	3,1 x 10 <sup>5</sup>
	2.	74	32	30	3,2 x 10 <sup>5</sup>
<b>Rata-rata</b>					3,1 x 10 <sup>5</sup>

Tabel 7. Hasil Perhitungan Bakteri Asam Laktat dalam Formula Granul C (Bahan Pengisi Tepung Pisang) yang Disimpan pada Suhu 28°-30° C (Suhu Kamar)

Lama Penyimpanan	Replikasi	Pengenceran			Jumlah BAL (koloni/g)
		10 <sup>-6</sup>	10 <sup>-7</sup>	10 <sup>-8</sup>	
0 Hari	1.	275	95	77	9,5 x 10 <sup>5</sup>
	2.	242	81	59	8,1 x 10 <sup>5</sup>
<b>Rata-rata</b>					8,8 x 10 <sup>5</sup>
	1.	210	63	55	6,3 x 10 <sup>5</sup>

1 Minggu	2.	193	66	61	$6,6 \times 10^8$
<b>Rata-rata</b>					$6,5 \times 10^8$
2 Minggu	1.	102	65	54	$6,5 \times 10^8$
	2.	203	58	52	$5,8 \times 10^8$
<b>Rata-rata</b>					$6,1 \times 10^8$
3 Minggu	1.	99	42	52	$4,2 \times 10^8$
	2.	95	34	34	$3,4 \times 10^8$
<b>Rata-rata</b>					$3,8 \times 10^8$
4 Minggu	1.	85	32	30	$3,2 \times 10^8$
	2.	77	31	30	$3,1 \times 10^8$
<b>Rata-rata</b>					$3,1 \times 10^8$

Tabel 8. Hasil Perhitungan Uji Kadar Air (%LOD) Granul *Lactobacillus casei* Shirota strain

Formula	Bobot Sampel Basah	Bobot Sampel Kering	% LOD
A	12,05	11,71	2,82
B	12,02	11,70	2,66
C	12,04	11,71	2,74

$$\% \text{LOD} = \frac{\text{Bobot sampel basah} - \text{Bobot sampel kering}}{\text{Bobot sampel basah}} \times 100\%$$

Keterangan :

$$\% \text{LOD} = \frac{12,05 - 11,71}{12,05} \times 100\% = 2,82\%$$

Tabel 9. Hasil Perhitungan Uji Kadar Air (%MC) Granul *Lactobacillus casei* Shirota strain

Formula	Bobot Sampel Basah	Bobot Sampel Kering	% MC
A	12,05	11,71	2,90
B	12,02	11,70	2,73
C	12,04	11,71	2,81

$$\%MC = \frac{\text{Bobot sampel basah} - \text{Bobot sampel kering}}{\text{Bobot sampel kering}} \times 100\%$$

Keterangan :

$$\%MC = \frac{12,05 - 11,71}{11,71} \times 100\% = 2,90\%$$

Tabel 10. Hasil Perhitungan Uji Kecepatan Alir Granul *Lactobacillus casei* Shirota strain

Formula	Replikasi	Bobot Sampel (g)	Waktu Alir (detik)	Kecepatan Alir (g/detik)
A	1.	10	1,9	5,26
	2.	10	1,7	5,89
<b>Rata-rata</b>				5,58
B	1.	10	1,8	5,55
	2.	10	1,9	5,26
<b>Rata-rata</b>				5,40
C	1.	10	1,8	5,55
	2.	10	1,8	5,55
<b>Rata-rata</b>				5,55

Keterangan :  $\text{Kecepatan alir} = \frac{\text{Bobot sampel}}{\text{Waktu alir}}$

$$\text{Kecepatan alir} = \frac{10}{1,9} = 5,26 \text{ g/detik}$$

Tabel 11. Hasil Perhitungan Uji Sudut Istirahat Granul *Lactobacillus casei* Shirota strain

Formula	Replikasi	Tinggi (cm)	Diameter (cm)	Sudut Istirahat (°)
A	1.	2,0	10,5	20,80
	2.	1,8	10	19,79
<b>Rata-rata</b>				20,23
B	1.	1,9	10,4	20,05
	2.	1,9	10,4	20,05
<b>Rata-rata</b>				20,05
	1.	1,9	10,3	20,20

C	2.	1,9	10,2	20,40
<b>Rata-rata</b>				20,3

Keterangan :  $\tan \alpha = \frac{2h}{D}$   
 $\tan \alpha = \frac{2 \times 2,0}{10,5} = 0,380$

Dimana :  $\tan 0,380 = 20,80^\circ$   
 $\alpha$  = Sudut Istirahat  
h = Tinggi timbunan granul  
D = Diameter timbunan granul

Tabel 12. Hasil Perhitungan Uji Berat Jenis Sejati Granul *Lactobacillus casei* Shirota strain

Formula	Replikasi	Bj Sejati (g/ml)
A	1.	1,53
	2.	1,55
	<b>Rata-rata</b>	1,54
B	1.	1,24
	2.	1,26
	<b>Rata-rata</b>	1,25
C	1.	1,39
	2.	1,41
	<b>Rata-rata</b>	1,40

Keterangan :  $b_j \text{ parafin} = \frac{b - a}{25}$   
 $b_j \text{ parafin} = \frac{35,7 - 10,2}{25} = 1,02$

$$b_j \text{ sejati} = \frac{(c - a) \times b_j \text{ parafin cair}}{(c + b) - (a + d)}$$

$$b_j \text{ sejati} = \frac{(14,1 - 10,2) \times 1,02}{(14,1 + 35,7) - (10,2 + 37)} = 1,53$$

Dimana : a = Pikno kosong (25 ml) = 10,2  
b = Pikno + Paraffin cair = 35,7



$$c = \text{Pikno} + \text{Granul} = 14,1$$

$$d = \text{Pikno} + \text{Granul} + \text{Paraffin cair} = 37$$

Tabel 13. Hasil Perhitungan Uji Berat Jenis Nyata Granul *Lactobacillus casei* Shirota strain

Formula	Replikasi	Bobot Sampel (g)	Volume Sampel (ml)	Bj Nyata (g/ml)
A	1.	10	23	0,43
	2.	10	23,3	0,43
<b>Rata-rata</b>				0,43
B	1.	10	23	0,43
	2.	10	23	0,43
<b>Rata-rata</b>				0,43
C	1.	10	23	0,43
	2.	10	23	0,43
<b>Rata-rata</b>				0,43

Keterangan : 
$$\text{Bobot jenis nyata} = \frac{\text{Bobot granul}}{\text{Volume awal (Vo)}}$$

$$\text{Bobot jenis nyata} = \frac{10}{23} = 0,43 \text{ g/ml}$$

Tabel 14. Hasil Perhitungan Uji Berat Jenis Mampat Formula Granul A

Ketukan	Replikasi	Bobot Sampel (g)	Volume Sampel (ml)	Bj Mampat (g/ml)
Ke-10	1.	10	22	0,45
	2.	10	21,5	0,47
<b>Rata-rata</b>				0,46
Ke-50	1.	10	21	0,48
	2.	10	21	0,48
<b>Rata-rata</b>				0,48
Ke-500	1.	10	20,5	0,49

$$c = \text{Pikno} + \text{Granul} = 14,1$$

$$d = \text{Pikno} + \text{Granul} + \text{Paraffin cair} = 37$$

Tabel 13. Hasil Perhitungan Uji Berat Jenis Nyata Granul *Lactobacillus casei Shirota strain*

Formula	Replikasi	Bobot Sampel (g)	Volume Sampel (ml)	Bj Nyata (g/ml)
A	1.	10	23	0,43
	2.	10	23,3	0,43
<b>Rata-rata</b>				0,43
B	1.	10	23	0,43
	2.	10	23	0,43
<b>Rata-rata</b>				0,43
C	1.	10	23	0,43
	2.	10	23	0,43
<b>Rata-rata</b>				0,43

Keterangan : 
$$\text{Bobot jenis nyata} = \frac{\text{Bobot granul}}{\text{Volume awal (V}_0\text{)}}$$

$$\text{Bobot jenis nyata} = \frac{10}{23} = 0,43 \text{ g/ml}$$

Tabel 14. Hasil Perhitungan Uji Berat Jenis Mampat Formula Granul A

Ketukan	Replikasi	Bobot Sampel (g)	Volume Sampel (ml)	Bj Mampat (g/ml)
Ke-10	1.	10	22	0,45
	2.	10	21,5	0,47
<b>Rata-rata</b>				0,46
Ke-50	1.	10	21	0,48
	2.	10	21	0,48
<b>Rata-rata</b>				0,48
Ke-500	1.	10	20,5	0,49

	2.	10	20	0,5
<b>Rata-rata</b>				0,5

$$\text{Bobot jenis mampat} = \frac{\text{Bobot granul}}{\text{Volumemampat}}$$

Keterangan :

$$\text{Bobot jenis mampat} = \frac{10}{22} = 0,45 \text{ g/ml}$$

Tabel 15. Hasil Perhitungan Uji Berat Jenis Mampat Formula Granul B

Ketukan	Replikasi	Bobot Sampel (g)	Volume Sampel (ml)	Bj Mampat (g/ml)
Ke-10	1.	10	22,5	0,44
	2.	10	21,5	0,47
<b>Rata-rata</b>				0,46
Ke-50	1.	10	21	0,48
	2.	10	21	0,48
<b>Rata-rata</b>				0,48
Ke-500	1.	10	20,5	0,49
	2.	10	20,5	0,49
<b>Rata-rata</b>				0,49

$$\text{Bobot jenis mampat} = \frac{\text{Bobot granul}}{\text{Volumemampat}}$$

Keterangan :

$$\text{Bobot jenis mampat} = \frac{10}{22,5} = 0,44 \text{ g/ml}$$

Tabel 16. Hasil Perhitungan Uji Berat Jenis Mampat Formula Granul C

Ketukan	Replikasi	Bobot Sampel (g)	Volume Sampel (ml)	Bj Mampat (g/ml)
Ke-10	1.	10	22,5	0,44
	2.	10	22	0,45
<b>Rata-rata</b>				0,48

Ke-50	1.	10	21,5	0,47
	2.	10	21	0,48
<b>Rata-rata</b>				0,48
Ke-500	1.	10	21	0,48
	2.	10	20	0,5
<b>Rata-rata</b>				0,49

$$\text{Bobot jenis mampat} = \frac{\text{Bobot granul}}{\text{Volumemampat}}$$

Keterangan :

$$\text{Bobot jenis mampat} = \frac{10}{22,5} = 0,44 \text{ g/ml}$$

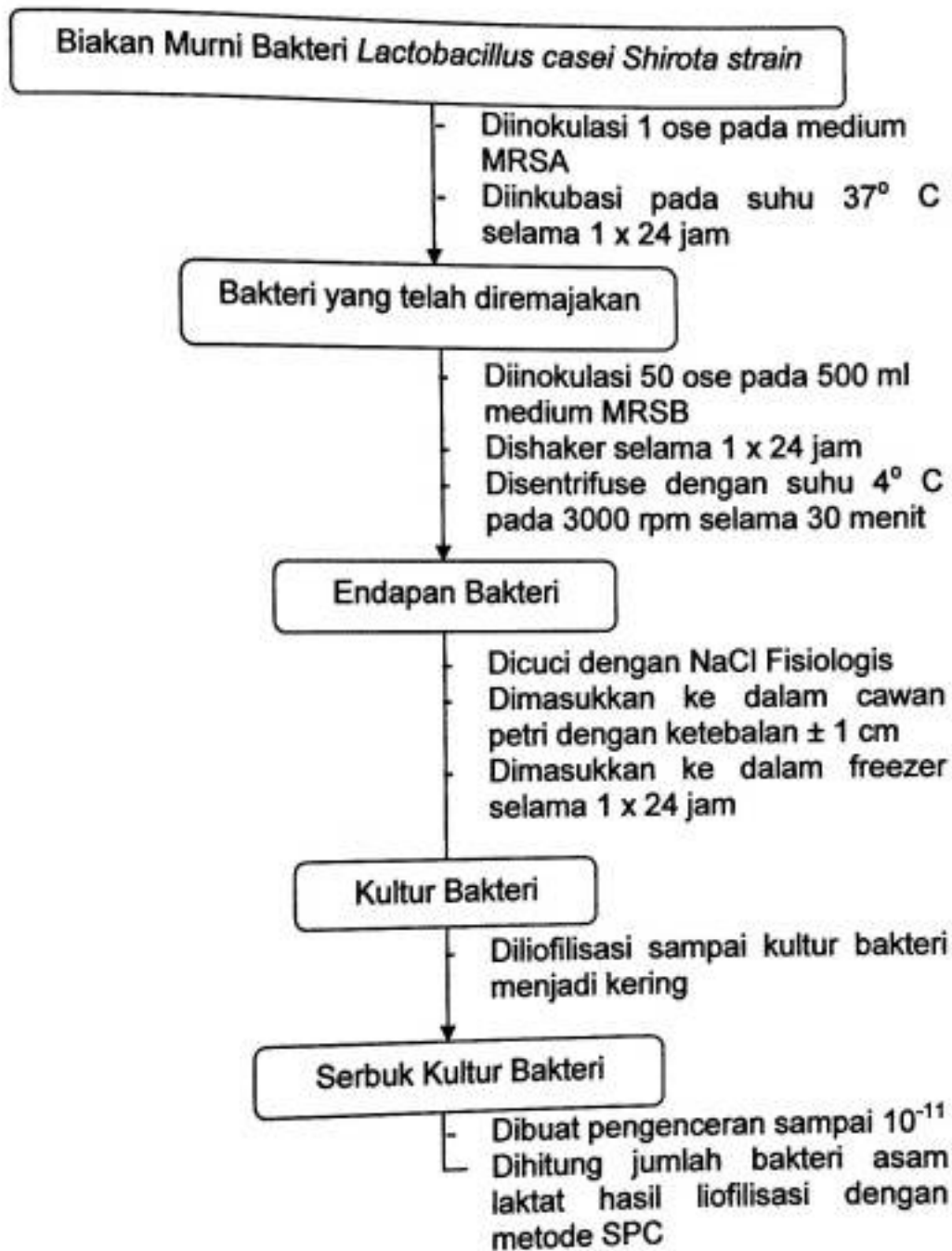
Tabel 17. Hasil Perhitungan Uji Porositas

Formula	Bj mampat (g/ml)	Bj sejati (g/ml)	Porositas (%)
A	0,5	1,54	68
B	0,49	1,25	60
C	0,49	1,40	65

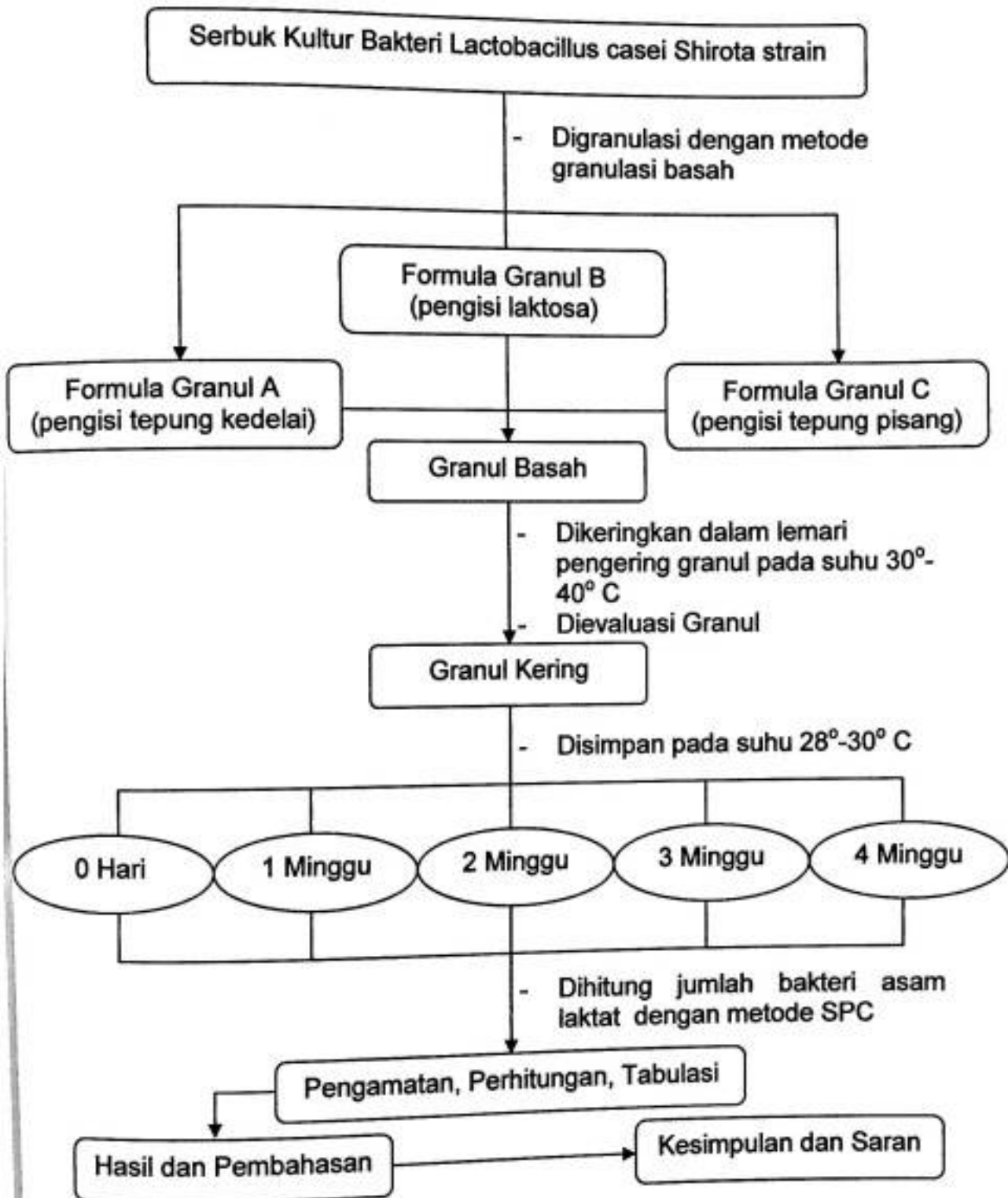
$$\text{Porositas} = \left( 1 - \frac{\text{bjmampat}}{\text{bjsejati}} \right) \times 100\%$$

Keterangan :

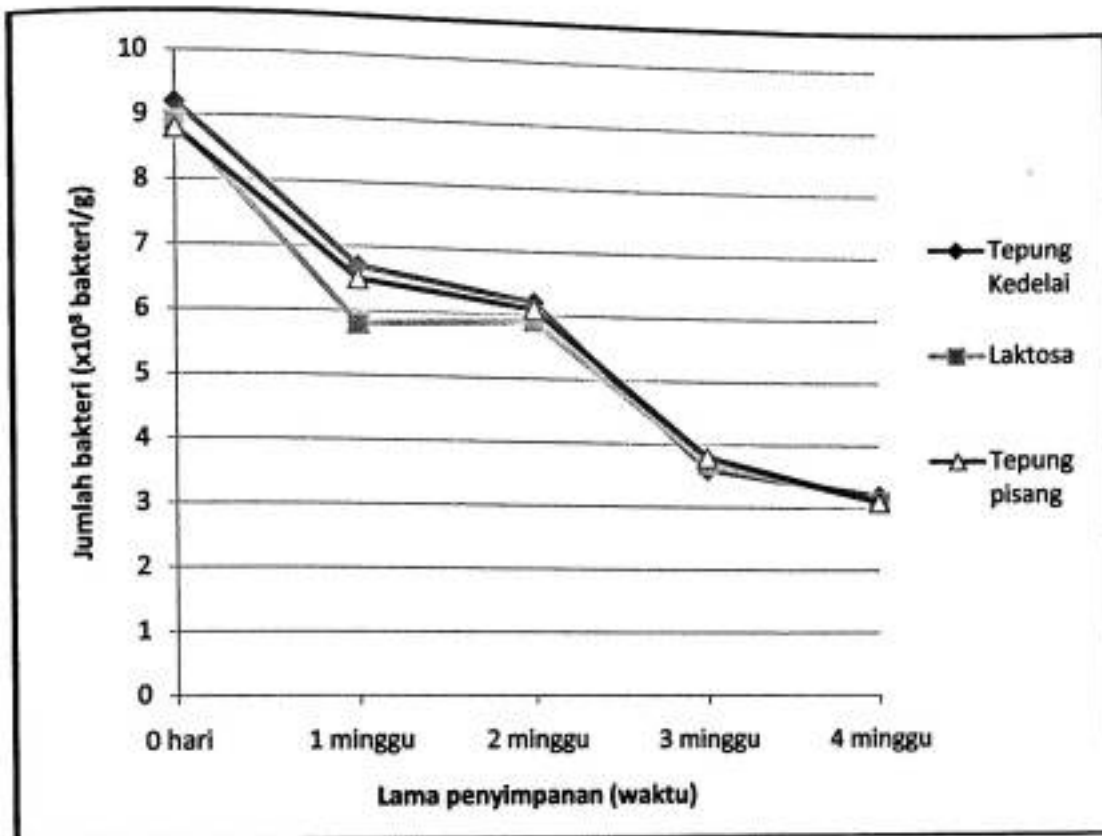
$$\text{Porositas} = \left( 1 - \frac{0,5}{1,54} \right) \times 100\% = 68\%$$



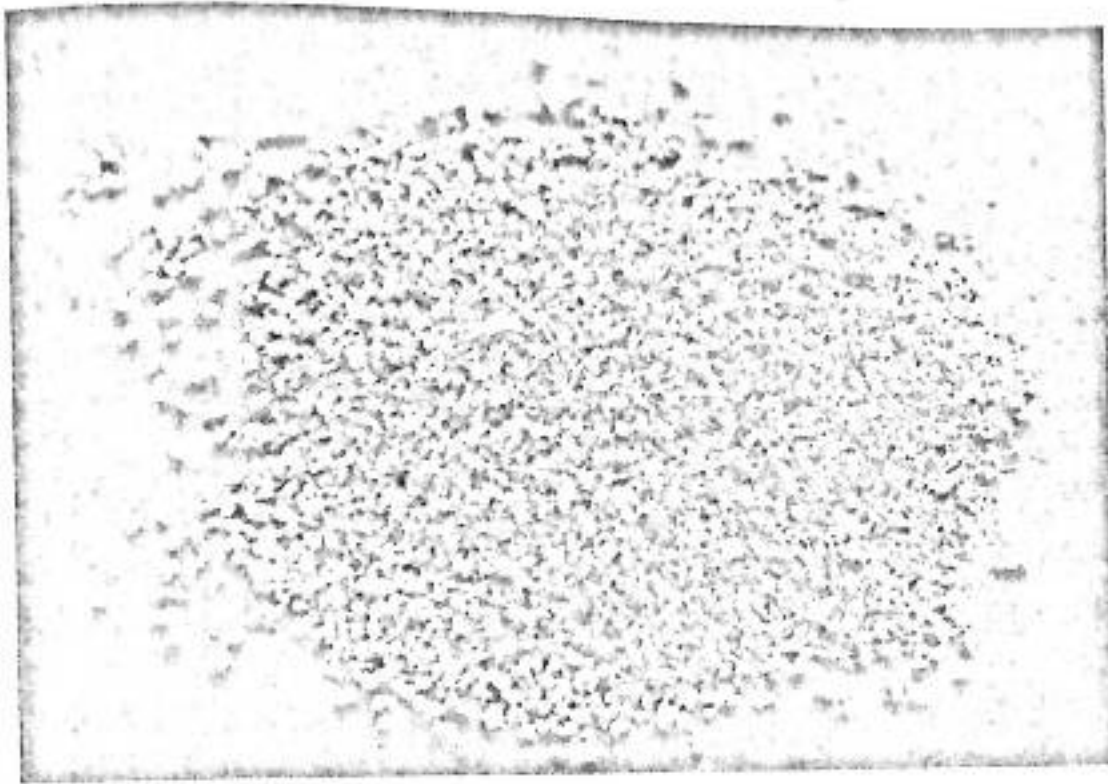
Gambar 5. Skema Kerja Pembuatan Serbuk Kultur Bakteri



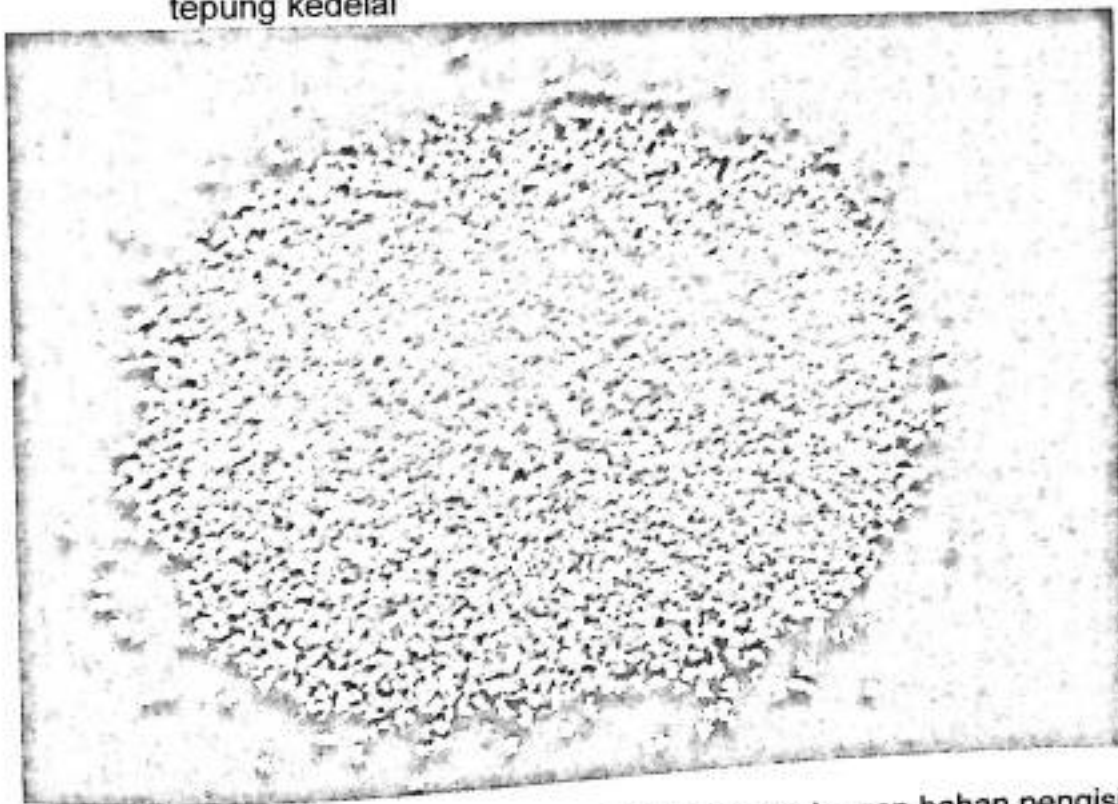
Gambar 6. Skema Kerja Pembuatan Granul *Lactobacillus casei* Shirota strain



Gambar 7. Grafik Hubungan antara variasi bahan pengisi dengan jumlah bakteri *Lactobacillus casei Shirota strain*.

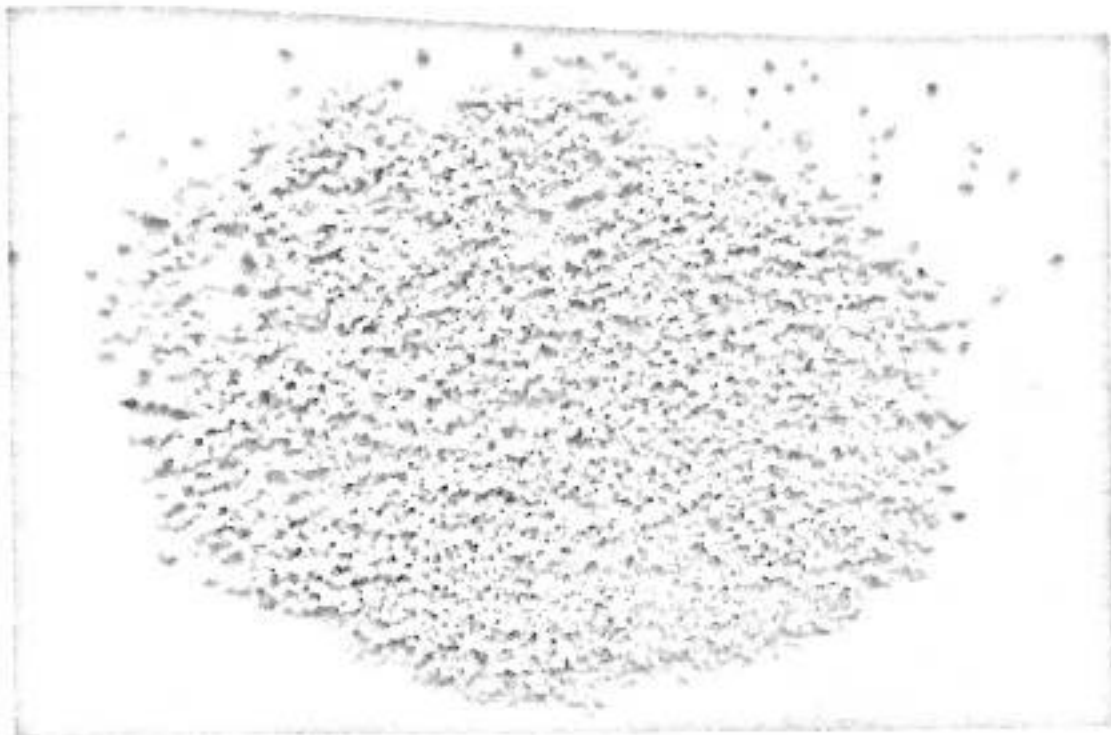


Gambar 8. Granul *Lactobacillus casei* Shirota strain dengan bahan pengisi tepung kedelai

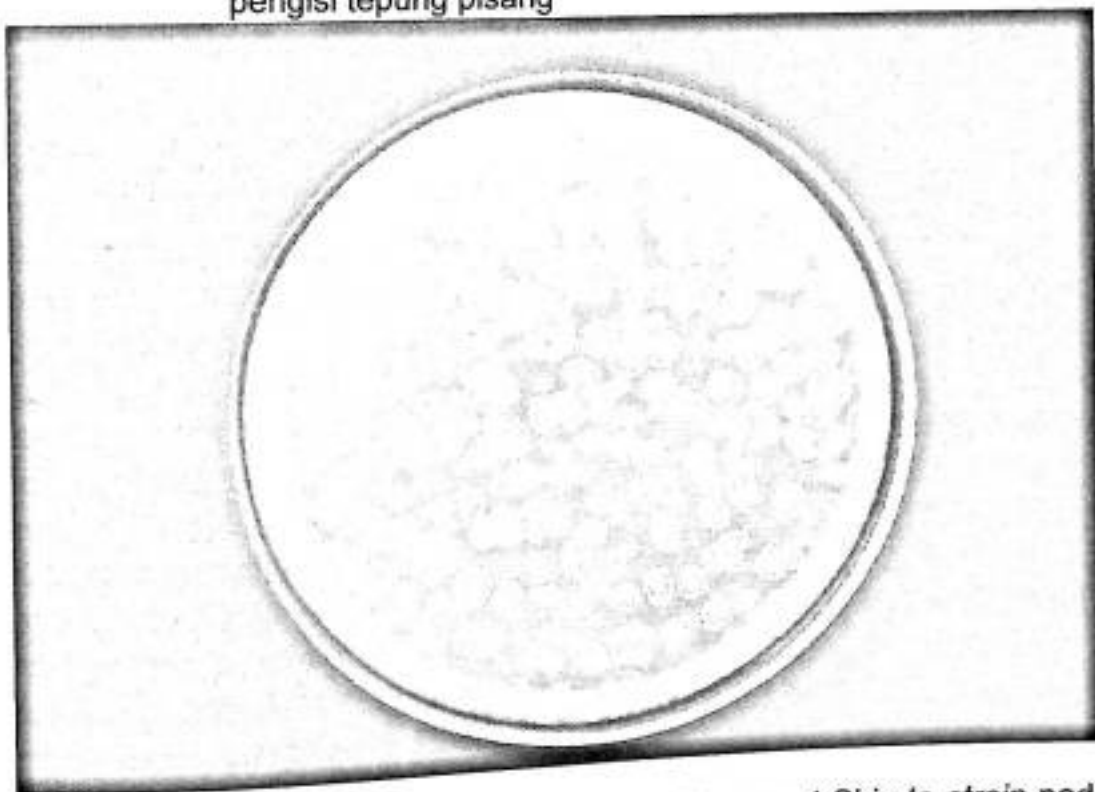


Gambar 9. Granul *Lactobacillus casei* Shirota strain dengan bahan pengisi laktosa

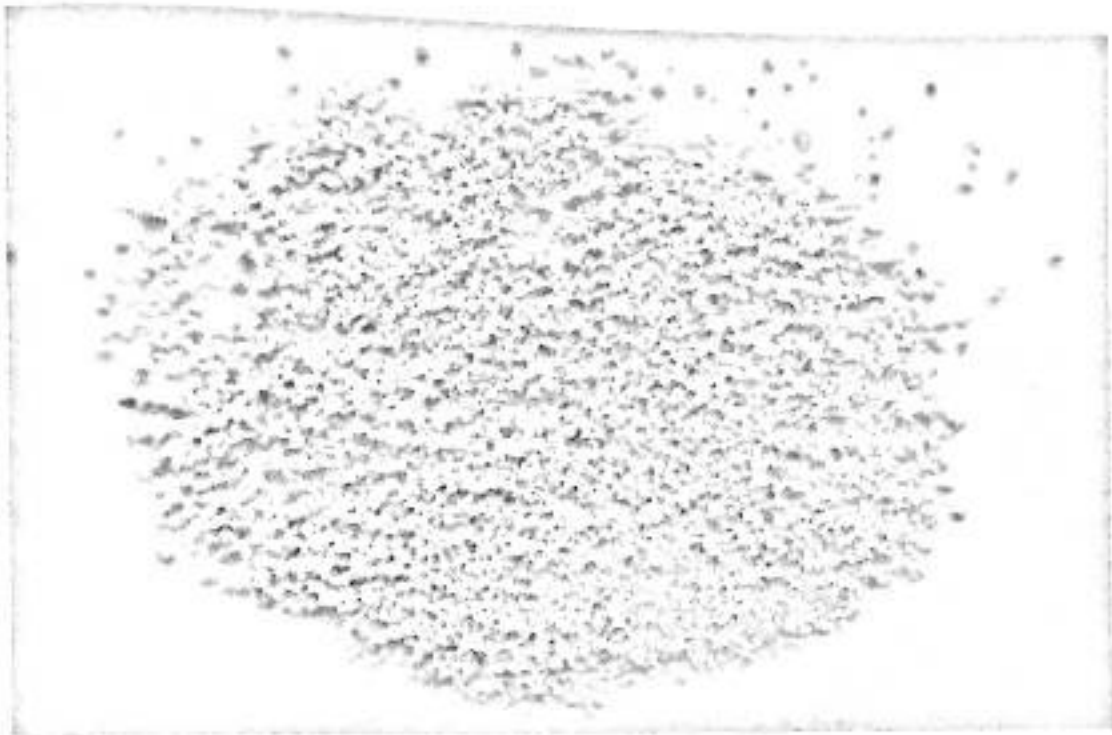




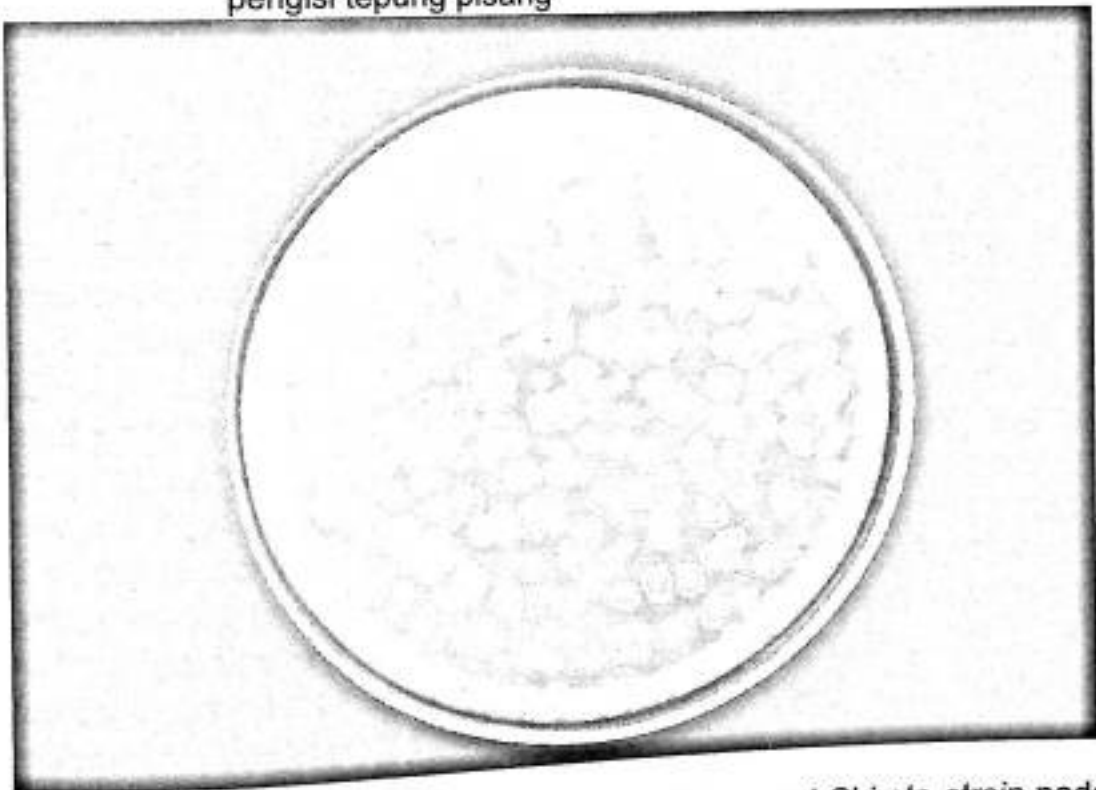
Gambar 10. Granul *Lactobacillus casei* Shirota strain dengan bahan pengisi tepung pisang



Gambar 11. Pertumbuhan bakteri *Lactobacillus casei* Shirota strain pada medium GYP + CaCO<sub>3</sub>



Gambar 10. Granul *Lactobacillus casei* Shirota strain dengan bahan pengisi tepung pisang



Gambar 11. Pertumbuhan bakteri *Lactobacillus casei* Shirota strain pada medium GYP + CaCO<sub>3</sub>

## Lampiran 1. Komposisi Medium

### 1. Medium MRS (De Man Ragosa and Sharpe) Agar

Komposisi :

Pepton 10 g, ekstrak daging 5 g, ekstrak ragi 5 g, glukosa 20 g, dikalium hidrogen fosfat 2 g, tween 80 1 g, diamonium hidrogen sitrat 2 g, natrium asetat 5 g, magnesium sulfat 0,1 g, mangan sulfat 0,05 g, agar 15 g, air suling hingga 150 ml, PH 6,5.

### 2. Medium MRS (De Man Ragosa and Sharpe) Broth

Komposisi :

Pepton 10 g, ekstrak daging 5 g, ekstrak ragi 5 g, glukosa 20 g, dikalium hidrogen fosfat 2 g, tween 80 1 g, diamonium hidrogen sitrat 2 g, natrium asetat 5 g, magnesium sulfat 0,1 g, mangan sulfat 0,05 g, air suling hingga 500 ml, PH 6,5.

### 3. Medium GYPA + CaCO<sub>3</sub>

Komposisi :

Glukosa 5 g, yeast ekstrak 5 g, pepton 5 g, agar 7,5 g, CaCO<sub>3</sub> 5 g, air suling hingga 500 ml, larutan mineral 1 ml per 200 ml media (komposisi larutan mineral : MnSO<sub>4</sub> 0,2 g, FeSO<sub>4</sub> 0,2 g, NaCl 0,2 g, MgSO<sub>4</sub> 7 H<sub>2</sub>O 0,4 g, HCl 1 tetes, air suling hingga 1000 ml), PH 6,7-7.

Lampiran 2. Contoh Perhitungan Jumlah Bakteri Asam Laktat (BAL)

Pengenceran	$10^{-9}$	$10^{-10}$	$10^{-11}$
Jumlah BAL	185	53	51

Diambil pengenceran  $10^{-10}$  dan  $10^{-11}$

$$\frac{51 \times 10^{-11}}{53 \times 10^{-10}} = 9,622 > 2$$

Karena perbandingan hasil perhitungan pada tingkat yang lebih tinggi diperoleh jumlah koloni rata-rata lebih besar dari 2 kali jumlah koloni rata-rata pada pengenceran dibawahnya, maka nilai SPC/angka lempeng total dipilih dari tingkat pengenceran yang lebih rendah.

Nilai SPC yang dilaporkan :  $5,3 \times 10^{11}$

Lampiran 3. Perhitungan Statistik Jumlah *Lactobacillus casei* Shirota strain ( $\times 10^8$ ) dalam Granul Menggunakan Rancangan Faktorial

Lama Penyimpanan	A1	A2	A3	Total
B1	9,9	9,1	9,5	
	8,5	8,7	8,1	
$\Sigma$	18,4	17,8	17,6	53,8
B2	8,1	7,3	6,3	
	5,2	5,2	6,6	
$\Sigma$	13,3	12,5	12,9	38,7
B3	6,8	6,0	6,5	
	5,7	5,7	5,8	
$\Sigma$	12,5	11,7	12,3	36,5
B4	3,8	3,9	4,2	
	3,5	3,5	3,4	
$\Sigma$	7,3	7,4	7,6	22,3
B5	3,4	3,1	3,2	
	3,1	3,2	3,1	
$\Sigma$	6,5	6,3	6,3	19,1
<b>Total</b>	<b>58</b>	<b>55,7</b>	<b>56,7</b>	<b>170,4</b>

Keterangan :

- A1 = Granul *Lactobacillus casei* Shirota strain dengan bahan pengisi tepung kedelai  
 A2 = Granul *Lactobacillus casei* Shirota strain dengan bahan pengisi laktosa  
 A3 = Granul *Lactobacillus casei* Shirota strain dengan bahan pengisi tepung pisang

B1 = Penyimpanan pada hari ke-0

B2 = Penyimpanan pada minggu ke-1

B3 = Penyimpanan pada minggu ke-2

B4 = Penyimpanan pada minggu ke-3

B5 = Penyimpanan pada minggu ke-4

### 1. Perhitungan K, JKT, JKP dan JKG

#### Faktor Koreksi (FK)

$$\begin{aligned} \text{FK} &= \frac{Y^2}{a \times b \times r} \\ &= \frac{(170,4)^2}{3 \times 5 \times 2} \\ &= \frac{29036,16}{3 \times 5 \times 2} \\ &= 967,872 \end{aligned}$$

#### Jumlah Kuadrat Total (JKT)

$$\begin{aligned} \text{JKT} &= (9,9)^2 + (8,5)^2 + \dots + (3,1)^2 - \text{FK} \\ &= 1108,18 - 967,872 \\ &= 140,308 \end{aligned}$$

#### Jumlah Kuadrat Perlakuan (JKP)

$$\begin{aligned} \text{JKP} &= \frac{(18,4)^2 + (13,3)^2 + \dots + (6,3)^2}{r} - \text{FK} \\ &= \frac{2196,58}{2} - 967,872 \end{aligned}$$

$$= 1098,29 - 967,872$$

$$= 130,418$$

Jumlah Kuadrat Galat (JKG)

$$JKG = JKT - JKP$$

$$= 140,308 - 130,418 = 9,89$$

## 2. Perhitungan pengaruh utama dari interaksi faktor A dan B

Jumlah Kuadrat Faktor A (JKA)

$$\begin{aligned} JKA &= \frac{(A1)^2 + (A2)^2 + (A3)^2}{b \times r} - FK \\ &= \frac{(58)^2 + (55,7)^2 + (56,7)^2}{5 \times 2} - FK \\ &= \frac{9681,38}{10} - 967,872 \\ &= 968,138 - 967,872 \\ &= 0,266 \end{aligned}$$

Jumlah Kuadrat Interaksi Faktor B (JKB)

$$\begin{aligned} JKB &= \frac{(B1)^2 + (B2)^2 + (B3)^2 + (B4)^2 + (B5)^2}{a \times r} - FK \\ &= \frac{(53,8)^2 + (38,7)^2 + (36,5)^2 + (22,3)^2 + (19,1)^2}{3 \times 2} - FK \\ &= \frac{6586,48}{6} - 967,872 \end{aligned}$$

$$= 1097,75 - 967,872$$

$$= 129,87$$

Jumlah Kuadrat Interaksi Faktor A dan B (JKAB)

$$JKAB = JKP - JKA - JKB$$

$$= 130,418 - 0,266 - 129,878$$

$$= 0,274$$

### 3. Perhitungan derajat bebas (db)

$$\text{db perlakuan} = a.b - 1 = (3).(5) - 1 = 14$$

$$\text{db galat} = (r - 1) a.b = (2 - 1) 3.5 = 15$$

$$\text{db total} = r.a.b - 1 = (2).(3).(5) - 1 = 29$$

$$\text{db A} = a - 1 = 3 - 1 = 2$$

$$\text{db B} = b - 1 = 5 - 1 = 4$$

$$\text{db AB} = (a - 1) (b - 1) = (3 - 1).(5 - 1) = 8$$



Tabel Anava

Sumber Keragaman	db	JK	KT	Fh	Ft	
					1%	5%
Perlakuan	14	130,418	-	-	-	-
A	2	0,266	0,133	0,2015 <sup>tn</sup>	6,36	3,68
B	4	129,878	32,47	49,197 <sup>**</sup>	4,89	3,06
AB	8	0,274	0,034	0,051 <sup>tn</sup>	4,00	2,64
Galat	15	9,89	0,66			
Total	29	140,308	4,839			

Keterangan :

tn = Berpengaruh tidak nyata (tidak signifikan)

\*\* = Berpengaruh sangat nyata (sangat signifikan)

A = Formula Granul dengan variasi bahan pengisi

B = Lama penyimpanan granul *Lactobacillus casei* Shirota strain

AB = Interaksi antara formula granul dengan lama penyimpanan granul

db = Derajat bebas

JK = Jumlah kuadrat

KT = Kuadrat tengah

Fh/Ft = Faktor hitung/Faktor tabel