

## BAB I

### PENDAHULUAN

#### 1.1 Latar Belakang

Indonesia sebagai negara tropis dan negara berkembang memiliki prevalensi infeksi saluran cerna yang cukup tinggi (Herbowo A. Soetomonggolo, 2010). Bakteri yang sering mengakibatkan masalah kesehatan saluran cerna manusia adalah *Eschericia coli* berada pada usus. Terdapat strain *E.Coli* yang mempunyai faktor virulensi sehingga bisa menyebabkan penyakit seperti diare, infeksi saluran urin, sepsis atau meningitis. Probiotik adalah mikroba hidup menguntungkan pada makhluk hidup, yang bermanfaat untuk memperbaiki keseimbangan mikroba di dalam saluran pencernaan (Afrianto dan Livyawaty, 2005). Probiotik bisa digunakan sebagai alternatif untuk mencegah penyakit akibat bakteri patogen dalam saluran pencernaan sehingga dapat mengurangi penggunaan antibiotik, khususnya untuk antibiotik yang digunakan pada saluran cerna. Biaya yang rendah, tidak menyebabkan resistensi antibiotik, dan mampu menghambat penyakit merupakan beberapa keuntungan penggunaan probiotik sebagai terapi untuk mengatasi gangguan saluran cerna (Rolfe, 2000).

Bakteri asam laktat adalah probiotik yang paling penting karena memiliki efek menguntungkan pada saluran pencernaan manusia. Bakteri asam laktat yang umum digunakan sebagai probiotik berasal dari genus *Lactobacillus sp* dan *Bifidobacterium sp* (Suparjo, 2008). Bakteri *Lactobacillus acidophilus* adalah bakteri yng paling banyak digunakan

(Pamuji, 2012). *Lactobacillus acidophilus* cenderung mengkonsumsi nutrisi yang dibutuhkan oleh bakteri lain untuk hidup, hal ini menyebabkan kompetisi antara *Lactobacillus acidophilus* dengan bakteri patogen pada saluran pencernaan, mekanisme antibakteri *Lactobacillus acidophilus* dikaitkan dengan substansi bakteriosin yang dihasilkan yaitu acidosin, lactacin, acidophilin, acidolin, dan lactocidin (Oh, 2000), *Lactobacillus acidophilus* menghasilkan Hydrogen peroksida (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) dan zat lain yang membuat lingkungan tidak ramah terhadap bakteri patogen (Gilliland and Speck, 1977).

Prebiotik dapat menjadi sumber energi dan nutrisi untuk probiotik (Collins dan Gibson, 1999). Prebiotik ditemukan secara alami dalam buah-buahan dan sayuran seperti pisang, berries, asparagus, bawang putih, gandum, oatmeal, barley (dan biji-bijian lain utuh), biji rami, tomat, bawang dan sawiputih, hijau (terutama dandelion hijau tetapi juga bayam, *collard* hijau, *chard*, kangkung, sawi, dan lain-lain) dan kacang-kacangan (kacang merah, buncis, kacang *navy*, kacang putih, kacang hitam (Crittenden, 2008). Tomat merupakan salah satu sayuran yang banyak dikonsumsi di dunia pada sepanjang tahun dan memiliki banyak kandungan zat yang bermanfaat bagi kesehatan (J. Murali Krishna, 2013). Mekanisme tomat sebagai prebiotik karena tomat mengandung karbohidrat yang dapat digunakan sebagai prebiotik untuk menjamin pertumbuhan bakteri (Kusharyati *et al.*, 2011). Selain itu keunggulan tomat (*Lycopersicum esculentum*) dipilih sebagai prebiotik karena memiliki aktivitas antibakteri (Naseer *et al.*, 2012). Tomat memiliki kandungan yang bermanfaat bagi kesehatan yaitu likopen, vitamin A, vitamin C, zat besi,  $\beta$ -karoten, lutein, glikosida quercetin, naringenin dan asam klorogenat (Krishna, 2013). Berdasarkan penelitian (Rao, 2007; Sung, 2007) Likopen telah dibuktikan memiliki aktivitas

antimikroba terhadap bakteri patogen. Dibandingkan dengan produk olahan lain, pasta tomat memiliki kandungan likopen yang paling tinggi bahkan dibandingkan dengan buah segar (Tsang, 2005; Arab dan Steck, 2000). Oleh karena pasta tomat memiliki kandungan likopen yang paling tinggi maka digunakan pasta tomat sebagai prebiotik yang dapat menjamin pertumbuhan bakteri probiotik.

Produk probiotik dan pasta tomat ini merupakan upaya pencegahan dan pengobatan terhadap penyakit melalui produk *nutriceutical*. Namun, permasalahan pada probiotik dan pasta tomat ini terletak pada cara penyimpanannya. Hal ini ditunjukkan dalam penelitian (Gueimonde *et al.*, 2004) bahwa ada penurunan viabilitas *Lactobacillus acidophilus* saat penyimpanan (Donkor *et al.*, 2006). *Lactobacillus acidophilus* juga tidak mampu bertahan hidup dalam kondisi kadar oksigen yang sangat tinggi (Talwalkar and Kailasapathy, 2004). *Lactobacillus acidophilus* tidak tahan terhadap pH asam lambung dengan penurunan viabilitas rata-rata sebesar 5 log cfu (Sabikhi *et al.*, 2008). viabilitas bakteri probiotik mempengaruhi aktivitasnya karena untuk menimbulkan aktivitas tersebut bakteri probiotik harus *viable* dengan jumlah minimal yang dikonsumsi adalah  $10^6$ - $10^7$  cfu/mL dalam sehari (Krasaekoopt *et al.*, 2003).

Oleh karena itu, khusus untuk sediaan per-oral, *intake* bakteri probiotik sangat menentukan aktivitasnya setelah sampai pada permukaan mukosa usus atau target yang lain. Ada beberapa cara yang dapat dilakukan untuk mempertahankan viabilitas bakteri probiotik salah satunya yaitu dengan dibuat mikropartikel. Mikropartikel dapat didefinisikan sebagai suatu bentuk padat yang memiliki ukuran 1-1000  $\mu\text{m}$  (Swarbrick *et al.*, 1994). Mikropartikel dapat dibuat dengan berbagai metode diantaranya adsorpsi pada polimer, *matrix entrapment*, mikroenkapsulasi, dan *physical*

*entrapment* dalam polimer *beads* (Reimann S., 2009, Lacroix *et al.*, 2005). Mikroenkapsulasi dipilih karena memiliki kelebihan dapat menghasilkan mikropartikel berbentuk bola, tipis dan kuat, oleh karena itu sel-sel bakteri dapat dipertahankan (Jankowski *et al.*, 1997). Selain itu mikroenkapsulasi dapat digunakan untuk melindungi bakteri probiotik dari oksigen, lingkungan asam, penyimpanan dalam suasana dingin, dan kondisi fisiologis pada saluran cerna (Doleyres dan Lacroix, 2005; Anal dan Singh, 2007). Metode mikroenkapsulasi yang sering digunakan untuk probiotik adalah *emulsion*, *extrusion* dan *spray drying* (Cook *et al.*, 2012). Metode *extrusion* dipilih karena memiliki kelebihan yaitu sederhana, murah, tidak menyebabkan kerusakan probiotik dan memberikan viabilitas probiotik yang tinggi (Krasaekoopt *et al.*, 2003). Teknologi yang digunakan tidak melibatkan pelarut organik dan dapat dilakukan pada kondisi aerobik maupun anaerob. Selain itu karena menggunakan bantuan syringe ukuran droplet yang dihasilkan masih cukup besar berkisar antara 1,10 mm hingga 1,50 mm (joshi *et al.*, 2012). Untuk memperoleh mikropartikel dengan ukuran yang lebih kecil dapat digunakan sistem spray seperti vibrasi, atomisasi udara (aerosolisasi), dan atomisasi cakram peminta (Cook *et al.*, 2012). Penggunaan sistem spray dapat mengurangi ukuran mikropartikel dari milimeter menjadi beberapa ratus mikron (Cook *et al.*, 2012).

Dalam proses mikroenkapsulasi dibutuhkan polimer sebagai matrik untuk melapisi bahan inti (Dubey *et al.*, 2009). Polimer yang digunakan dalam mikroenkapsulasi ada beberapa macam yaitu: alginat, *gellan gum* dan *xanthan gum*, *k-Carrageenan*, *cellulose acetate phthalate*, *chitosan*, *starch*, gelatin, dan protein susu (Burgain *et al.*, 2012). Pada penelitian (Draget *et al.*, 1994) diketahui bahwa alginat dapat digunakan sebagai pembawa pada obat yang dikehendaki lepas di usus. Alginat bersifat non-toksik sehingga

aman dikonsumsi secara per-oral dan dapat memberikan efek proteksi pada mukosa saluran cerna bagian atas (Kim *et al.*, 1992). Alginat juga dapat melindungi obat yang sensitif terhadap asam lambung (Yotsuyanagi *et al.*, 1987). Larut atau tidaknya alginat tergantung dari jenis garam yang mengikatnya. Garam Natrium, logam alkali lain, dan juga amonia merupakan contoh garam yang dapat larut dalam air. Untuk kation polivalent seperti  $\text{Ca}^{2+}$  tidak larut dalam air (Vaija *et al.*, 1982). Pada proses *Extrusion* alginat dilarutkan dahulu didalam air maka pada formulasi mikroenkapsulasi probiotik dan pasta tomat digunakan alginat yang mengikat garam natrium. Tetapi natrium alginat tidak dapat membentuk mikropartikel yang mempunyai kemampuan menjebak bahan aktif. Kemampuan penjebakan dari polimer alginat dipengaruhi oleh garam yang mengikatnya (El-kamal *et al.*, 2003). Proses penetesan cairan alginat pada cairan yang mengandung ion kalsium, divalen atau kation polivalent menyebabkan terbentuknya gel sferis yang disebut dengan "*alginate bead*" (Kim *et al.*, 1992). Sehingga digunakan ikatan sambung silang dengan garam divalen untuk menghasilkan mikropartikel yang mempunyai kemampuan menjebak dan dapat melindungi viabilitas probiotik. Diantara kation divalent secara umum  $\text{Ca}^{2+}$  paling sering digunakan untuk membentuk gel, karena  $\text{Ca}^{2+}$  memiliki toksisitas rendah (Putra *et al.*, 2011).  $\text{CaCl}_2$  banyak digunakan dalam proses mikroenkapsulasi. Ion  $\text{Ca}^{2+}$  pada  $\text{CaCl}_2$  dapat berikatan dengan alginat membentuk massa gel. Ion  $\text{Ca}^{2+}$  banyak digunakan untuk membentuk gel (Subaryono, 2010).

Bentuk dan ukuran yang dihasilkan dengan teknik *extrusion* dipengaruhi oleh diameter jarum/syringe dan jarak antara jarum/syringe dengan larutan pengeras (Krasaekoopt *et al.*, 2003). Selain itu, perbandingan bahan aktif dan polimer juga sangat berpengaruh terhadap mikropartikel.

Meningkatnya perbandingan bahan aktif-polimer, dapat meningkatkan kerapatan matrik polimer sehingga laju pelepasan menurun, sedangkan dengan menurunnya konsentrasi polimer maka dapat menyebabkan penurunan efisiensi enkapsulasi (Rastogi *et al.*, 2006). Konsentrasi natrium alginat yang umum dipakai adalah antara 0,5-4% dengan 0,05-1,5 M kalsium klorida (Krasaekoopt *et al.*, 2003).

Berdasarkan uraian di atas maka dilakukan penelitian tentang pengaruh konsentrasi Alginat terhadap viabilitas mikroba probiotik, karakterisasi mikropartikel, dan aktivitas mikropartikel probiotik terhadap hambatan pertumbuhan *Eschericia coli* dengan metode *extrusion* dengan teknik aerosolisasi dilakukan. Mikroba probiotik yang digunakan adalah *Lactobacillus acidophilus* dengan viabilitas  $10^8$  cfu/mL. Dosis prebiotik yang digunakan sebanyak 1 gram. Karena keberadaan mikroba probiotik pada target dengan jumlah minimal  $10^7$  cfu/mL merupakan persyaratan yang harus diperhatikan untuk membuat sediaan probiotik yang aktif sebagai antibakteri. Oleh karena itu, sebelum dilakukan uji aktivitas mikropartikel probiotik, terlebih dahulu dilakukan uji viabilitas *Lactobacillus acidophilus*. Untuk formula mikropartikel dipilih 3 macam konsentrasi natrium Alginat (2,5%, 3%, 3,5%) sehingga akan didapatkan konsentrasi alginat optimal yang memberikan karakteristik fisik yang baik serta viabilitas dan aktivitas antibakteri yang optimal. Karakteristik fisik mikropartikel yang diamati meliputi bentuk dan ukuran. Uji viabilitas *Lactobacillus acidophilus* dilakukan untuk mengetahui viabilitas bakteri probiotik sebelum dan setelah dienkapsulasi. Uji aktivitas daya hambat antibakteri dilakukan sebelum dan setelah dibuat mikropartikel dengan cara menghitung diameter zona hambat (mm) terhadap *Eschericia coli*.

## 1.2 Rumusan Masalah

1. Bagaimana pengaruh konsentrasi natrium alginat 2,5%, 3%, dan 3,5% terhadap karakteristik fisik (bentuk dan ukuran) mikropartikel kombinasi probiotik dan pasta tomat?
2. Bagaimana pengaruh konsentrasi natrium alginat 2,5%, 3%, dan 3,5% terhadap viabilitas bakteri probiotik *Lactobacillus acidophilus*?
3. Bagaimana pengaruh konsentrasi natrium alginat 2,5%, 3%, dan 3,5% terhadap aktivitas antibakteri mikropartikel kombinasi probiotik dan pasta tomat?

## 1.3 Tujuan Penelitian

1. Menentukan pengaruh konsentrasi natrium alginat 2,5%, 3%, dan 3,5% terhadap karakteristik fisik (bentuk dan ukuran) mikropartikel kombinasi probiotik dan pasta tomat
2. Menentukan pengaruh konsentrasi natrium alginat 2,5%, 3%, dan 3,5% terhadap viabilitas bakteri probiotik *Lactobacillus acidophilus*
3. Menentukan pengaruh konsentrasi natrium alginat 2,5%, 3%, dan 3,5% terhadap aktivitas antibakteri mikropartikel kombinasi probiotik dan pasta tomat

## 1.4 Manfaat Penelitian

Diharapkan dari penelitian ini diperoleh formula dengan karakteristik mikropartikel kombinasi probiotik (*Latobacillus acidopilus*) dan pasta tomat yang baik serta memiliki viabilitas dan aktivitas antibakteri yang optimal.