

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Probiotik adalah sekumpulan organisme hidup, bila digunakan dalam jumlah yang memadai, akan memberikan manfaat kesehatan bagi inangnya (FAO/WHO.,2002). Produk yang mengandung mikroorganisme probiotik harus mengandung $10^6 - 10^7$ cfu sel probiotik yang hidup per 1 g pada saat dikonsumsi, untuk memberikan efek yang menguntungkan bagi kesehatan manusia (Picot *and* Lacroix, 2004; FAO/WHO, 2002). Spesies dari *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus plantarum*, *Enterococcus faecium*, *Bifidobacterium bifidum*, *bifidobacterium lactis*, dan *Bifidobacteria longum* merupakan bakteri yang paling populer untuk produk probiotik (Motrazavian *et al.*, 2007).

Sebagian besar probiotik banyak diformulasikan dalam bentuk sediaan oral maupun sebagai makanan. Sebagai sediaan oral probiotik biasanya dipakai sebagai sarana untuk mengembalikan keseimbangan mikroba, terutama disaluran pencernaan. Namun, beberapa tahun terakhir banyak penelitian yang menunjukkan bahwa probiotik dapat memiliki efek yang bermanfaat pada homeostasis kulit, inflamasi kulit, pertumbuhan rambut, dan respon jaringan periperal terhadap stres. Bahkan, kemampuan untuk membantu menjaga dan merawat kondisi kulit, termasuk mengurangi tanda-tanda penuaan, jerawat, rosacea, jamur dan infeksi bakteri, psoriasis, dan dermatitis, terlihat pada pemberian probiotik secara topikal, hal ini terbukti dengan semakin bertambahnya sediaan probiotik topikal untuk *skin care* dan *anti aging* yang tersedia dipasaran (Cinque *el al.*, 2011), serta semakin banyaknya studi klinik yang membuktikan bahwa probiotik tidak hanya dapat bermanfaat secara oral tapi juga secara topikal.

Penggunaan probiotik sebagai agen terapi sangat potensial untuk dikembangkan, aktivitas antimikroba yang dimiliki oleh probiotik diharapkan dapat menjadi salah satu alternatif dalam menghadapi berbagai masalah resistensi bakteri yang disebabkan oleh penggunaan antibiotik yang meningkat selama beberapa dekade terakhir (Servin, 2004). Bakteri *Lactobacillus acidophilus* dapat menghambat pertumbuhan bakteri, ragi, jamur, dan virus atau kombinasi keempatnya di kulit maupun membran mukosa (Farmer *et al.*, 2000). Selain itu, *Lactobacillus acidophilus* merupakan salah satu bakteri asam laktat yang menghasilkan bakteriosin yang memiliki aktifitas sebagai antimikroba dan antiinflamasi (Cinque *et al.*, 2011). Penelitian Oh *et al.* (2006) telah membuktikan bahwa bakteriosin mampu menghambat pertumbuhan bakteri penyebab inflamasi kulit seperti *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, dan *Propionibacterium acnes* (Cinque *et al.*, 2011).

Bakteri probiotik harus tetap hidup saat dikonsumsi atau digunakan sampai berada dalam tempat targetnya agar dapat memberikan manfaat. Faktor lingkungan seperti temperatur selama proses penyimpanan, paparan oksigen dan pH tempat probiotik diaplikasikan sangat berpengaruh pada kelangsungan hidup bakteri (Teanpaisan *et al.*, 2012). Oleh karena itu, diperlukan suatu sistem penghantaran yang dapat melindungi probiotik dari pengaruh lingkungan dan dapat bertahan lama di kulit agar diperoleh aktifitas yang tinggi, serta mampu melepaskan probiotik secara bertahap saat digunakan agar efektifitasnya meningkat.

Berdasarkan tinjauan tersebut, mikrosfer dapat dipilih sebagai sistem penghantaran yang cocok. Mikrosfer dapat melindungi probiotik dari faktor lingkungan, menghindari kontaminasi dari zat lain, dan mengontrol pelepasan bahan aktif yang berupa probiotik, agar dapat diperoleh aktivitas yang lebih besar sehingga efektifitasnya meningkat. Mikrosfer merupakan

salah satu sistem penghantaran yang digunakan untuk pelepasan terkontrol dan sebagai *target site* terapi (Vasir *et al.*, 2003). Mikrosfer merupakan partikel padat berbentuk sferis yang berukuran antara 1-1000 μm (Vasir *et al.*, 2003; Sahil *et al.*, 2011). Untuk penggunaan topikal ukuran mikrosfer yang ideal adalah berkisar antara 5 – 25 μm (Kircik, 2011). Enkapsulasi adalah proses penjebakan bahan obat dalam matriks untuk mengurangi kerusakan ataupun kehilangan bahan obat, proses ini telah banyak dipakai untuk melindungi mikroorganisme termasuk probiotik selama masa penyimpanan maupun saat digunakan (Li *et al.*, 2009). Sehingga untuk meningkatkan kestabilan dari probiotik dibuat mikrosfer dengan proses mikroenkapsulasi.

Matriks yang digunakan untuk enkapsulasi bahan aktif dapat berupa polimer, karbohidrat, protein, lemak, atau *wax* (Cock and Castillo., 2013). Berbagai macam polimer alam dan sintetik dapat dipakai sebagai matriks enkapsulasi antara lain kitosan, asam poliglukolat (PGA), polietilen glikol (PEG), amilum, gelatin, dan alginat (Ramachandran *et al.*, 2010).

Mikrosfer yang dibuat dengan matriks alginat dapat dengan mudah membentuk matrik gel yang mengelilingi bahan aktif, tidak toksik bagi tubuh (aman atau biokompatibel), murah, dan mudah dalam proses pengerjaannya serta dapat dikerjakan pada temperatur ruang dalam medium air dengan memakai bahan kimia yang aman. (Gouin, 2004; Li *et al.*, 2009). Keuntungan lain dari alginat yaitu tidak toksik untuk sel probiotik, enkapsulasinya yang *reversible* memungkinkan alginat untuk melepas sel probiotik ditempat pemakaiannya (Li *et al.*, 2009).

Selain keuntungan yang telah disebutkan, alginat ternyata memiliki kekurangan yaitu partikel yang dihasilkan terlalu porus untuk melindungi probiotik dari faktor lingkungan (Chavarri *et al.*, 2012), selain itu diameter dari pori-pori matriks akan berpengaruh pada intensitas dan kecepatan

pelepasannya, semakin besar ukuran pori-pori matriks pelepasan bahan obat akan semakin cepat (Kircik, 2011), sehingga diperlukan matriks lain untuk menutupi kekurangan dari alginat tersebut. Karena sifat amfoternya, gelatin dapat dikombinasikan dengan polisakarida anionik seperti alginat (Li *et al.*,2009), selain itu struktur kompak antara alginat dan gelatin akan memberikan ukuran partikel yang kecil dan ukuran pori- pori partikel yang kecil pula (Roy *et al.*, 2009).

Gelatin selama ini banyak digunakan dalam industri makanan dan farmasi. Dalam industri farmasi, bahan gelatin biasanya dimanfaatkan sebagai pembawa obat (maddu *et al.*,2006). Gelatin merupakan polimer alam, derivat dari kolagen dan biasa digunakan dalam bidang farmasi dan kedokteran, karena biokompatibel, tidak toksik dan biodegradabel pada lingkungan fisiologis dan memiliki kemampuan untuk melakukan *cross linking* (Ramachandran *et al.*, 2010; Elzoghby., 2013). Gelatin juga digunakan secara klinikal sebagai matriks pada formulasi protein, dan vaksin (Elzoghby., 2013). Selain itu, gelatin memiliki kemampuan membentuk membran yang sangat baik dan berguna sebagai agen pembentuk gel termal yang reversibel untuk enkapsulasi (Li *et al.*,2009).

Selain jenis matriks, konsentrasi matriks berpengaruh terhadap karakteristik dan aktivitas antimikroba dari probiotik. Meningkatnya konsentrasi matriks dapat meningkatkan kerapatan antar matriks sehingga efisiensi mikrosfer meningkat namun bahan aktif akan sulit terlepas dari matriksnya. Sebaliknya, dengan menurunnya konsentrasi matriks maka dapat menyebabkan penurunan efisiensi mikrosfer karena matriks tidak dapat menjebak bahan aktif secara optimal dan bahan aktif cepat terlepas dari matriksnya (Jyothi *et al.*, 2010; Rastogi *et al.*, 2006). Konsentrasi matriks mempengaruhi ukuran mikrosfer yang diperoleh. Konsentrasi alginat yang banyak digunakan sebagai mikroenkapsulasi adalah 0,5-5%

(Rowe *et al.*, 2009), sedangkan Konsentrasi gelatin yang dapat digunakan adalah antara 3%-15% (Inostroza *et al.*, 2010).

Untuk memberikan kekuatan mekanik pada matriks perlu digunakan penyambung silang yang sesuai untuk matriks Natrium alginat dan gelatin. Bahan yang sering digunakan untuk penyambung silang meliputi glutaraldehid, CaCl_2 , formaldehid, natrium hidroksida, dan natrium tripolifosfat.

CaCl_2 merupakan penyambung silang yang dapat menjadi pilihan pada pembuatan mikrosfer berbasis alginat dan gelatin karena relatif tidak toksik. (Sinha *et al.*, 2004). Garam alginat ion monovalen seperti natrium sangat larut air. Dengan penambahan kation bervalensi banyak seperti Ca^{2+} , akan membentuk ikatan kuat antara dua asam a-L-guluronat yang saling berdekatan menjadi saling terhubung satu sama lain. Ikatan inilah yang membentuk massa gel (Erdinc, 2007). Sedangkan pada gelatin, saat berada pada pH diatas titik isoelektriknya gugus $-\text{COOH}$ pada gelatin akan mengalami deprotonasi sehingga dapat terjadi reaksi sambung silang (*cross linking*) dengan Ca^{2+} dari CaCl_2 (Narayanan *et al.*, 2013). Proses pembentukan kompleks polimer ini disebut sebagai gelasi ionik. Gelasi ionik melibatkan penyambung silang polielektrolit karena adanya *multivalent control ions* berupa kompleksasi polielektrolit dengan polielektrolit yang muatannya berbeda. Kompleks ini dapat meningkatkan kekakuan partikel (Ko *et al.*, 2002; Sinha *et al.*, 2004). Konsentrasi CaCl_2 sebagai cross linker yang dapat digunakan adalah antara 0.05-1.5 M. (Inostroza *et al.*, 2010).

Mikroenkapsulasi dapat dilakukan dengan beberapa metode yaitu *spray drying*, *freezing (spray freeze-drying)*, *lyophilization*, *spray cooling*, koaservasi, emulsifikasi dan ekstruksi (Serna-Cock and Vallejo-Castillo, 2013; Rathore *et al.*, 2012). Metode ekstrusi 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. 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). Bentuk dan ukuran yang dihasilkan dengan teknik ekstrusi dipengaruhi oleh diameter jarum/syringe dan jarak antara jarum/syringe dengan larutan pengeras (Krasaekoopt *et al.*, 2003).

Berdasarkan uraian tersebut, maka perlu dilakukan penelitian mengenai pengaruh penggunaan matriks kombinasi gelatin dan alginat (1,5% : 1,5%), alginat tunggal (3%), dan gelatin tunggal (3%) terhadap karakteristik (bentuk, ukuran, kandungan lengas dan efisiensi penjebakan) dan aktivitas antimikroba mikrosfer probiotik *Lactobacillus acidophilus* yang ditumbuhkan dalam media MRS dan dibuat dengan cross linker CaCl_2 1,5 M dengan metode ekstrusi dengan teknik aerosolisasi. Selanjutnya dilakukan pemeriksaan terhadap karakteristik (bentuk, ukuran, kandungan lengas, dan efisiensi penjebakan) dan aktivitas antimikroba, yaitu ukuran partikel yang dapat diamati menggunakan mikroskop optik, kandungan lengas diuji dengan menggunakan alat *Moisture Analyzer* HB43-S Mettler Toledo, efisiensi penjebakan diamati dari viabilitas probiotik sebelum dan setelah proses ekstrusi, dan aktivitas diamati dari uji daya hambat dengan menggunakan bakteri patogen uji yaitu *Staphylococcus aureus*. Hal ini dilakukan untuk mengetahui keberhasilan sistem yang dibuat. Dari ketiga formula tersebut diharapkan didapatkan mikrosfer dengan ukuran partikel sferis, kecil, homogen, serta mempunyai aktivitas antimikroba yang tinggi.

1.2 Rumusan Masalah

- 1.2.1 Bagaimana pengaruh penggunaan matriks kombinasi alginat dan gelatin (perbandingan 1,5% : 1,5%) terhadap karakteristik (bentuk, ukuran, kandungan lengas, dan efisiensi penjebakan) mikrosfer probiotik *Lactobacillus acidophilus*?
- 1.2.2 Bagaimana pengaruh penggunaan matriks kombinasi alginat dan gelatin (perbandingan 1,5% : 1,5%) terhadap aktivitas antimikroba mikrosfer probiotik *Lactobacillus acidophilus* terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*?

1.3 Tujuan Penelitian

- 1.3.1 Menentukan pengaruh penggunaan matriks kombinasi alginat dan gelatin (perbandingan 1,5% : 1,5%) terhadap karakteristik fisik (bentuk, ukuran, kandungan lengas, dan efisiensi penjebakan) mikrosfer probiotik *Lactobacillus acidophilus*
- 1.3.2 Menentukan pengaruh penggunaan matriks kombinasi alginat dan gelatin (perbandingan 1,5% : 1,5%) terhadap aktivitas antimikroba mikrosfer probiotik *Lactobacillus acidophilus* terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*

1.4 Manfaat Penelitian

Diharapkan dari penelitian ini dapat diperoleh karakteristik fisik (bentuk, ukuran, kandungan lengas, dan efisiensi penjebakan) dan aktivitas antimikroba yang optimal dari mikrosfer probiotik *Lactobacillus acidophilus*.