

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Probiotik adalah mikroorganisme yang apabila digunakan dalam jumlah yang cukup dapat memberikan manfaat bagi kesehatan (FAO/WHO, 2002). Mikroorganisme yang biasanya digunakan sebagai probiotik, antara lain *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Saccharomyces cerevisiae*, *E. coli*, dan *Bacillus sp.* *Lactobacillus* dan *Bifidobacterium* merupakan probiotik yang paling sering digunakan dalam berbagai jenis produk, seperti makanan, obat-obatan, dan suplemen (Soccol *et al.*, 2010; Guarner, 2008). Probiotik dapat menimbulkan efek terapi apabila dikonsumsi dalam jumlah minimal 10^6 - 10^7 cfu/g sehari. *International Dairy Federation* (IDF) merekomendasikan konsumsi $\geq 10^7$ cfu/g probiotik untuk mencapai efek terapi (Mortazavian *et al.*, 2007).

Beberapa penelitian selama satu dekade terakhir menunjukkan bahwa probiotik bermanfaat untuk mengatasi gangguan kulit, seperti dermatitis, jerawat, selulitis, dan psoriasis (Cinque *et al.*, 2011). Hal ini berkaitan dengan kandungan metabolit probiotik yang dapat melindungi kulit dari bakteri patogen dan memperbaiki struktur kulit. Bakteriosin dapat melindungi kulit dari bakteri patogen karena bersifat antimikroba. Asam lipoteikoat, peptidoglikan, dan diasetil selain bersifat antimikroba juga dapat menstimulasi sistem imun pada kulit, sedangkan asam asetat mencegah pertumbuhan bakteri di kulit dengan penurunan pH. Selain itu, adanya asam hialuronat, sfingomyelinase, dan asam laktat dapat

memperbaiki struktur kulit karena dapat membantu pembentukan jaringan kulit (Lew dan Liong, 2013; Cinque *et al.*, 2011).

Gangguan kulit dapat disebabkan oleh bakteri penyebab infeksi kulit, beberapa diantaranya *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus pyogenes*, *Propionibacterium acnes*, dan *Pseudomonas aeruginosa* (Cogen *et al.*, 2008). *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri yang paling sering menyebabkan infeksi kulit (Templer, S. J. dan M. O. Brito, 2009).

Beberapa genus probiotik, antara lain *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Pediococcus*, dan *Leuconoctoc* memiliki aktivitas antimikroba (Šušćković, *et al.*, 2010). Pada penelitian Jebur, 2010, konsentrasi 1×10^8 cell/ml *Lactobacillus acidophilus* yang dibandingkan dengan gentamisin 10 μg menunjukkan aktivitas antimikroba terhadap *Staphylococcus aureus*, β -haemolytic *Streptococci*, dan *Staphylococcus epidermidis*. Dengan demikian, *Lactobacillus acidophilus* dapat digunakan sebagai alternatif dalam mengatasi infeksi kulit.

Pada penggunaan topikal bahan aktif harus bertahan lama di kulit, pelepasannya bertahap, dan stabil. Sementara, probiotik *Lactobacillus acidophilus* tidak stabil terhadap pengaruh lingkungan, seperti suhu tinggi, oksigen, dan kelembaban (Al-Hurr *et al.*, 2011). Oleh karena itu, diperlukan suatu sistem penghantaran yang dapat melindungi *Lactobacillus aciophilus* dan metabolit yang dihasilkan sehingga dapat memberikan aktivitas antimikroba yang optimal, yaitu dengan cara enkapsulasi. Selain dapat melindungi *Lactobacillus aciophilus*, enkapsulasi juga dapat memberikan

pelepasan yang diperlama sehingga efektivitasnya meningkat karena aktivitas antimikrobanya menjadi lebih panjang.

Enkapsulasi adalah proses penjebakan substansi atau bahan aktif ke dalam matriks tertentu sehingga dihasilkan partikel (Lakkis, 2007). Partikel yang dihasilkan dapat berukuran milimeter, mikrometer, atau nanometer (Chávarri *et al.*, 2012). Proses enkapsulasi yang membentuk partikel berukuran 1-1000 μm (mikropartikel) disebut mikroenkapsulasi. Jika mikropartikel yang dihasilkan berbentuk sferis, maka disebut mikrosfer (Sri *et al.*, 2012; Sahil *et al.*, 2011). Pada penggunaan topikal, untuk bahan aktif yang ditujukan bekerja hingga lapisan epidermis, ukuran mikrosfer yang disarankan adalah 5-300 μm (Chadawar dan Shaji, 2007).

Matriks yang digunakan untuk mengenkapsulasi bahan aktif dapat berupa karbohidrat, selulosa, gom, lemak, atau protein (Serna-Cock dan Vallejo-Castillo, 2013; Sri *et al.*, 2012). Natrium alginat banyak digunakan sebagai matriks mikroenkapsulasi dari bakteri probiotik (Chen *et al.*, 2014). Mikrosfer yang dibuat dengan matriks natrium alginat dapat meningkatkan viabilitas dari bakteri probiotik selama penyimpanan (Ding, 2009). Keuntungan mikroenkapsulasi menggunakan natrium alginat adalah dapat dengan mudah membentuk matrik gel yang mengelilingi sel bakteri, tidak toksik bagi tubuh (aman atau biokompatibel), murah, mudah dalam proses pengerjaannya (Gouin, 2004).

Gelatin juga merupakan matriks yang sering digunakan dalam mikroenkapsulasi probiotik (Solanki *et al.*, 2013). Gelatin adalah suatu fraksi protein murni hasil hidrolisis kolagen yang berasal dari kulit atau tulang babi (gelatin tipe A) dan kulit atau tulang sapi

(gelatin tipe B) (Rowe, 2009). Gelatin dapat mengalami biodegradasi, tidak toksik, dan mudah mengalami *cross linking* sehingga dapat digunakan dalam preparasi sistem penghantaran koloidal, seperti mikrosfer dan nanopartikel (Sailaja, *et al.*, 2010). Dengan mengalami *cross linking*, gelatin dapat membentuk kapsul yang stabil untuk menjebak bahan aktif.

Konsentrasi matriks berpengaruh terhadap karakteristik dan aktivitas antimikroba dari metabolit yang dienkapsulasi. Meningkatnya konsentrasi polimer dapat meningkatkan kerapatan matrik polimer sehingga efisiensi mikrosfer meningkat namun bahan aktif akan sulit terlepas dari matriks. Sebaliknya, dengan menurunnya konsentrasi polimer maka dapat menyebabkan penurunan efisiensi enkapsulasi karena polimer tidak dapat menjebak bahan aktif secara optimal dan bahan aktif akan cepat terlepas dari matriks (Jyothi *et al.*, 2010; Rastogi *et al.*, 2006). Konsentrasi gelatin yang dapat digunakan untuk pembuatan mikrosfer adalah 0,3-6% (Bhat *et al.*, 2014; Lee *et al.*, 2014; Panizzon *et al.*, 2014). Sedangkan untuk natrium alginat adalah 0,5-4% (Solanki *et al.*, 2013).

Selain konsentrasi matriks, jenis matriks sangat berpengaruh terhadap karakteristik mikrosfer yang dihasilkan. Karakteristik mikrosfer yang hanya dibuat dengan matriks natrium alginat, cenderung memberikan pelepasan yang serentak (Lee dan Mooney, 2011). Oleh karena itu, untuk tujuan pelepasan yang diperlama, yaitu pada kulit, natrium alginat hendaknya dikombinasi dengan gelatin. Menurut penelitian Roy *et al.*, 2009, mikrosfer yang dibuat dari kombinasi matriks natrium alginat dan gelatin pada perbandingan 1 :

4, 1 : 2, 2 : 3, dan 1 : 1 akan memberikan pelepasan yang diperlama, yaitu mencapai 7 hari. Sedangkan menurut penelitian Lee *et al.*, 2014, kombinasi natrium alginat dan gelatin dengan perbandingan 1 : 2 akan memberikan ukuran partikel yang kecil dan partikel kecil yang terbentuk ini tidak mudah beragregasi pada saat proses pengadukan maupun pengeringan.

Matriks natrium alginat banyak menggunakan *cross linker* kalsium klorida, fungsi dari ion kalsium adalah untuk menyambung silang agar mikropartikel lebih stabil dengan efek perlindungan yang lebih tinggi akibatnya viabilitas dari probiotik juga lebih tinggi (Chandramouli *et al.*, 2004). CaCl_2 juga dapat digunakan sebagai *cross linker* gelatin. Dibandingkan glutaraldehid dan genipin, CaCl_2 merupakan *cross linker* yang dapat menjadi pilihan pada pembuatan mikrosfer berbasis gelatin karena relatif tidak toksik. Pada pH 8,5 gugus $-\text{COOH}$ pada gelatin akan mengalami deprotonasi sehingga dapat terjadi reaksi sambung silang (*cross linking*) dengan Ca^{2+} dari CaCl_2 (Elzoghby, 2013). Proses pembentukan kompleks polimer ini disebut sebagai gelasi ionik. Konsentrasi CaCl_2 sebagai *cross linker* yang dapat digunakan adalah 0,05-1,5 M (Solanki *et al.*, 2013). Pada penelitian ini dipilih gelatin tipe B karena memiliki pH yang lebih tinggi dibandingkan gelatin tipe A, yaitu 5-7,5 sehingga memudahkan terjadinya *cross linking* antara gelatin dengan CaCl_2 .

Beberapa metode mikroenkapsulasi, antara lain gelasi ionik dengan teknik ekstrusi, emulsifikasi, koaservasi, *hot melt*, *supercritical fluid technique*, pengeringan semprot, dan pengeringan beku (Kumar *et al.*, 2011; Jyothi *et al.*, 2010; Poshadri dan Kuna 2010). Gelasi ionik adalah peristiwa terjadinya *cross linking* antar

bahan-bahan yang bermuatan sehingga terbentuk kompleks (Solanki *et al.*, 2013). Sedangkan ekstrusi adalah teknik secara fisika untuk mengenkapsulasi sel probiotik yang hidup menggunakan hidrokoloid, seperti natrium alginat dan karagenan (Burgain *et al.*, 2011). Mikroenkapsulasi dengan metode ekstrusi memiliki beberapa keuntungan, yaitu sederhana dan murah, tidak merusak sel probiotik, menghasilkan viabilitas probiotik yang tinggi, bisa dilakukan dalam kondisi aerob maupun anaerob (Solanki *et al.*, 2013).

Berdasarkan uraian tersebut, maka perlu dilakukan penelitian mengenai pengaruh matriks (kombinasi natrium alginat-gelatin) dengan perbandingan 1% : 2% terhadap karakteristik (bentuk, ukuran, dan efisiensi pengebakan) dan aktivitas antimikroba mikrosfer *Lactobacillus acidophilus*. Metode mikroenkapsulasi dalam penelitian ini adalah gelasi ionik dengan teknik pembuatan mikrosfer yaitu ekstrusi. *Cross linker* yang digunakan adalah CaCl_2 1,5 M. Digunakan mikroskop optik untuk mengetahui bentuk dan ukuran partikel. Untuk, mengetahui efisiensi pengebakan mikrosfer, maka dilakukan uji viabilitas dengan penentuan angka lempeng total (ALT). Sedangkan untuk mengetahui aktivitas antimikroba, dilakukan uji daya hambat dengan metode difusi sumur agar menggunakan bakteri uji *Staphylococcus aureus*. Diameter zona hambat (mm) dari *Lactobacillus acidophilus* yang telah dienkapsulasi dibandingkan dengan diameter zona hambat (mm) *Lactobacillus acidophilus* sebelum dienkapsulasi. Selanjutnya, untuk mengetahui kesetaraan konsentrasi metabolit dalam mikrosfer dengan antibiotik, maka dibandingkan zona hambat susu probiotik yang telah dienkapsulasi dengan zona hambat antibiotik (gentamisin)

pada berbagai konsentrasi. Dalam penelitian ini, juga dibuat formula matriks tunggal natrium alginat 3% dan matriks tunggal gelatin 3% sebagai pembanding.

1.2 Rumusan Masalah

- 1.2.1 Bagaimana pengaruh matriks (kombinasi natrium alginat-gelatin) dengan perbandingan 1% : 2% terhadap karakteristik (bentuk, ukuran, dan efisiensi penjejakan) mikrosfer probiotik *Lactobacillus acidophilus*?
- 1.2.2 Bagaimana pengaruh matriks (kombinasi natrium alginat-gelatin) dengan perbandingan 1% : 2% terhadap aktivitas antimikroba *Lactobacillus acidophilus*?

1.3 Tujuan Penelitian

- 1.3.1 Menentukan pengaruh matriks (kombinasi natrium alginat-gelatin) dengan perbandingan 1% : 2% terhadap karakteristik (bentuk, ukuran, dan efisiensi penjejakan) mikrosfer probiotik *Lactobacillus acidophilus*?
- 1.3.2 Menentukan pengaruh matriks (kombinasi natrium alginat-gelatin) dengan perbandingan 1% : 2% terhadap aktivitas antimikroba *Lactobacillus acidophilus*?

1.4 Manfaat Penelitian

Diharapkan dari penelitian ini penggunaan kombinasi gelatin dan alginat sebagai matriks mikrosfer dapat digunakan dalam sistem penghantaran untuk dermatologi dan kosmetik.