



TEKNIK PROTEKSI PROBIOTIK DAN PREBIOTIK MENGGUNAKAN ENKAPSULASI TERHADAP DEGRADASI RUMEN SECARA *In Vitro*

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
- a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
- b. Pengutipan tidak mengujikan kepentingan yang wajar IPB University.

2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

WAFIYYATUNNUFUS



**PROGRAM STUDI BIOTEKNOLOGI
SEKOLAH PASCASARJANA
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2023**



PERNYATAAN MENGENAI TESIS DAN SUMBER INFORMASI SERTA PELIMPAHAN HAK CIPTA

Dengan ini saya menyatakan bahwa tesis dengan judul “Teknik Proteksi Probiotik dan Prebiotik Menggunakan Enkapsulasi terhadap Degradasi Rumen Secara *In Vitro*” adalah karya saya dengan arahan dari dosen pembimbing dan belum diajukan dalam bentuk apa pun kepada perguruan tinggi mana pun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka di bagian akhir tesis ini.

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta dari karya tulis saya kepada Institut Pertanian Bogor.

Bogor, Juli 2023

Wafiyyatunnufus
P051194131



RINGKASAN

WAFIYYATUNNUFUS. Teknik Proteksi Probiotik dan Prebiotik Menggunakan Enkapsulasi terhadap Degradasi Rumen Secara *In vitro*. Dibimbing oleh MULYORINI RAHAYUNINGSIH dan RONI RIDWAN.

Enkapsulasi adalah proses mekanis untuk melapisi zat atau bakteri dengan beberapa bahan untuk membentuk partikel yang terbungkus atau terlapisi menjadi berdiameter nanometer hingga milimeter. Berbagai jenis bahan enkapsulasi telah diterapkan untuk menyelimuti bakteri asam laktat, namun xanthan gum dan tanin adalah dua bahan enkapsulasi sederhana untuk bio-proteksi bakteri asam laktat yang terperangkap, karena non-toksitas, biaya rendah, dan biokompatibilitas. Pada penelitian ini kultur probiotik bakteri asam laktat diperoleh dari koleksi *Lactiplantabacillus plantarum* TSD-10 dan menggunakan target prebiotik hasil dari hidrolisis pretreatment basa dan asam menggunakan limbah pelepas kelapa sawit. Pada penelitian ini, inulin digunakan sebagai model prebiotik.

Berdasarkan latar belakang tersebut, tujuan penelitian ini adalah mengetahui pengaruh pemberian probiotik dan prebiotik, jenis enkapsulan dengan konsentrasi berbeda dan pengaruh fermentasi kecernaan terhadap sistem pencernaan dan ekologi rumen sapi secara *in vitro*. Pengembangan enkapsulasi probiotik dan prebiotik ini dibagi kepada tiga matriks yaitu pre-treatment hidrolisis bahan pakan menggunakan limbah kelapa sawit untuk mendapatkan target prebiotik xilo-oligosakarida, target prebiotik terlarut (*soluble*) dan tidak terlarut (*insoluble*) dan juga enkapsulasi probiotik dan prebiotik dalam degradasi rumen secara *in vitro*. Tahapan pertama penelitian ini dilakukan pembuatan prebiotik dengan metode alkali, asam dan enzim. Tahap kedua, dilakukan pengujian proksimat bahan pakan. Tahap ketiga, dilakukan pengujian fraksi serat berupa *neutral detergent fiber* (NDF) dan *acid detergent fiber* (ADF). Tahap keempat, dilakukan pengujian aktivitas kimia *Fourier transform infra red* (FT-IR) dan *X-Ray difraction* (XRD). Tahap kelima, dilakukan enkapsulasi dengan metode pengeringan dan pengujian enkapsulasi berupa *scanning electron microscope* (SEM), uji pertumbuhan bakteri menggunakan spektrofotometri OD (*optical density*) dan metode TPC (*total plate count*). Tahap terakhir, dilakukan pengujian *in vitro* dengan parameter pengujian pH, kecernaan bahan kering dan organik, kinetika gas, CH₄(metana), NH₃ dan VFA parsial menggunakan GC-MS.

Hasil enkapsulasi probiotik dan prebiotik dengan penambahan xanthan gum 2% dan tannin 1, 3, dan 5% efektif dapat digunakan sebagai matriks pada proses enkapsulasi bakteri probiotik dan dapat menurunkan produksi gas pada waktu 48 jam waktu inkubasi, menurunkan laju kinetika gas dan mampu menurunkan kecernaan rumen secara *in vitro*. Namun belum signifikan menurunkan produksi metana yang signifikan pada setiap perlakuan karena konsentrasi tannin yang digunakan masih rendah sehingga belum mencapai batas konsentrasi yang cukup untuk menurunkan kadar metana. Proses enkapsulasi ini dapat diterapkan dalam proteksi probiotik dan prebiotik dalam degradasi rumen secara *in vitro*.

Kata kunci: enkapsulasi, *in vitro*, prebiotik, probiotik, tannin, xanthan gum



SUMMARY

WAFIYYATUNNUFUS. Probiotic and Prebiotic Protection Techniques using Encapsulation Against Rumen Degradation *In vitro*. Supervised by MULYORINI RAHAYUNINGSIH of 1st supervisor 1st, RONI RIDWAN of 2nd supervisor.

Encapsulation is a mechanical process to trap substances or bacteria in some materials to form particles of nanometers to millimeters in diameter. Various types of encapsulating materials have been applied to embed lactic acid bacteria, however, xanthan gum and tannin are two of simple encapsulating materials to bio-protect entrapped lactic acid bacteria, due to its non-toxicity, low cost, and biocompatibility. In this study, probiotic cultures of lactic acid bacteria were obtained from the collection of *Lactiplantabacillus plantarum* TSD-10 and using prebiotic targets, resulting from alkaline and acid pre-treatment hydrolysis using oil palm fronds waste. However, in this study, inulin was used as a prebiotic model.

Based on this background, the aim of this study was to determine the effect of giving probiotics and prebiotics, types of encapsulants with different concentrations and the effect of digestible fermentation on the digestive system and rumen ecology of cattle *in vitro*. The development of probiotic and prebiotic encapsulation is divided into three matrices, namely pre-treatment hydrolysis of feed ingredients using palm oil waste to obtain xylo-oligosaccharide prebiotic targets, soluble and insoluble prebiotic targets and also encapsulation of probiotics and prebiotics in rumen degradation. *in vitro*. The first stage of this research was the manufacture of prebiotics using alkaline, acid and enzyme methods. The second stage, proximate testing of feed ingredients. The third stage, testing of fiber fractions in the form of neutral detergent fiber (NDF) and acid detergent fiber (ADF). In the fourth stage, the chemical activity of Fourier transform infrared (FT-IR) and X-Ray diffraction (XRD) were tested. In the fifth stage, encapsulation was carried out using the drying method and encapsulation testing in the form of a scanning electron microscope (SEM), bacterial growth test using the OD (optical density) spectro and the TPC (total plate count) method in order to determine the growth of probiotics and prebiotics after encapsulation. In the last stage, *in vitro* testing was carried out with parameters testing for pH, dry matter and organic matter digestibility, gas kinetics, CH₄ (methane), NH₃ and partial VFA using GC-MS.

The results of encapsulation of probiotics and prebiotics were shown the addition of xanthan gum 2% and tannin 1, 3, and 5% effectively can be used as a matrix in the encapsulation process of probiotic bacteria and can reduce gas production at 48 hours incubation time, reduce the gas kinetics rate and be able to degrade rumen digestibility *in vitro*. However, it has not significantly reduced methane production for each treatment because the tannin concentration used is still low so it has not reached the concentration limit sufficient to reduce methane levels. This encapsulation process can be applied in probiotic and prebiotic protection in degrading the rumen *in vitro*.

Keywords: encapsulation, *in vitro*, prebiotic, probiotic, tannin, xanthan gum.



©Hak cipta milik IPB University

IPB University



Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
- a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik, atau tinjauan suatu masalah,
- b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.

2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

© Hak Cipta milik IPB, tahun 2023
Hak Cipta dilindungi Undang-Undang

Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan atau menyebutkan sumbernya. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik, atau tinjauan suatu masalah, dan pengutipan tersebut tidak merugikan kepentingan IPB.

Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apa pun tanpa izin IPB.



**TEKNIK PROTEKSI PROBIOTIK DAN PREBIOTIK
MENGGUNAKAN ENKAPSULASI TERHADAP DEGRADASI
RUMEN SECARA *In vitro***

WAFIYYATUNNUFUS

Tesis
sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Magister pada
Program Studi Bioteknologi

IPB University

Tim Pengudi pada Ujian Tesis:

1. Dr. Indah Wijayanti, S.TP. M.Si

@Hak cipta milik IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



Judul Tesis

Nama
NIM

Teknik Proteksi Probiotik dan Prebiotik Menggunakan Enkapsulasi terhadap Degradasi Rumen Secara *In vitro*
Wafiyyatunnufus
P051194131

@Hak cipta milik IPB University

Disetujui oleh

Pembimbing 1:

Dr. Ir. Mulyorini Rahayuningsih, M.Si

Pembimbing 2:

Dr. Roni Ridwan, S. Pt. M.Si

Diketahui oleh

Ketua Program Studi:

Prof. Dr. Ir. Miftahudin, M.Si
NIP. 162041919890310

Dekan Sekolah Pascasarjana:

Prof. Dr. Ir. Dodik Ridho Nurrochmat, M.Sc.F.Trop., IPU
NIP. 197003291996081001



Tanggal Ujian: 22 Juni 2023

Tanggal Lulus: 14 JUL 2023

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :

a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah

b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajib IPB University.

2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



PRAKATA

Puji dan syukur penulis panjatkan kehadirat Tuhan Yang Maha Esa karena atas rahmat dan karunia-Nya penulis dapat menyelesaikan tesis yang berjudul “Teknik Proteksi Probiotik dan Prebiotik Menggunakan Enkapsulasi terhadap Degradasi Rumen Secara *In vitro*”. Tesis ini disusun sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Master of Science di program studi Biotehnologi, IPB University. Penulis mengucapkan banyak terima kasih kepada Dr.Ir. Mulyorini Rahayuningsih, M.Si selaku ketua komisi pembimbing dan Dr. Roni Ridwan, S. Pt. M. Si selaku anggota panitia pembimbing atas bimbingan dan arahannya selama penyusunan skripsi ini. Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada Prof. Ir. Miftahudin selaku ketua program studi Biotehnologi, dan Prof Dr. Ir Dodik Ridho Nurrochmat, M.Sc.F.Trop.,IPU selaku Dekan Sekolah Pascasarjana IPB yang telah memvalidasi tesis ini. Penulis juga mengucapkan terima kasih secara khusus kepada staf peneliti Pusat Riset Zoologi Terapan, BRIN Cibinong.

Penulis juga ingin mengucapkan terima kasih kepada rekan-rekan laboratorium yang telah membantu penulis. Penulis juga tidak lupa mengucapkan terima kasih kepada rekan-rekan mahasiswa prodi Biotehnologi dan anggota Bogor Science Club yang telah mendukung penulis selama penulis melakukan penelitian dan penulisan tesis.

Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada kedua orang tua yaitu Bapak Drs. Wahyu Mulyana, M. Pd dan Ibu Ela Kartila S. Pd, M.M. dan juga kepada suami tercinta yaitu Lucky Pratama Suharto, S.Si yang telah mendukung penulis selama perkuliahan hingga penyelesaian tesis ini. Akhir kata penulis berharap semoga karya ilmiah ini dapat bermanfaat bagi masyarakat dan memberikan kontribusi bagi kemajuan ilmu pengetahuan kedepannya.

Bogor, Juli 2023

Wafiiyyatunnufus



DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xii
I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan	3
1.4 Manfaat	3
1.5 Hipotesis	3
II. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 <i>Pre-treatment</i> Hidrolisis Sumber Pakan	4
2.2. Xilo-oligosakarida (XOS)	4
2.3. Inulin Sebagai Prebiotik	5
2.4. Probiotik dan Prebiotik dengan Teknik Enkapsulasi	5
2.5. Bahan Penyalutan Enkapsulasi Sebagai Proteksi Probiotik	5
2.6. Probiotik dan Prebiotik Terenkapsulasi pada Sistem Pencernaan	6
III. METODE	7
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian	7
3.2 Alat dan Bahan	7
3.3 Prosedur Kerja	7
3.4 Analisis Data	12
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	13
4.1 Analisis Kimia <i>Pre-treatment</i> Hidrolisis Ekstrak Pelepas Sawit	13
4.2 Karakterisasi Enkapsulasi Probiotik dan Prebiotik	19
4.3 Kurva Pertumbuhan Probiotik dan Prebiotik Terenkapsulasi	20
4.4 Kandungan Nutrisi Pakan Terenkapsulasi	21
4.5 <i>In vitro</i> Kinetika Produksi Gas	22
4.6 Kecernaan Fermentasi <i>In vitro</i>	23
V. SIMPULAN DAN SARAN	28
5.1 Simpulan	28
5.2 Saran	28
DAFTAR PUSTAKA	29
LAMPIRAN	33
RIWAYAT HIDUP	38



1	Komposisi Kimia Limbah Kelapa Sawit dengan Hidrolisis <i>Pre-treatment</i>	14
2	Kandungan kristalin, selulosa, dan lignin dari fraksi serat tidak terlarut (<i>insoluble</i>)	16
3	Kinetika produksi gas dan produksi metan dari penambahan serat terlarut (<i>soluble</i>) pelepas sawit	17
4	Total produksi gas, total metan, konsentrasi N-ammonia (N-NH ₃), kecernaan bahan kering (KCBK) dan kecernaan bahan organik (KCBO) dari penambahan serat terlarut (<i>soluble</i>) pelepas sawit	18
5	Populasi probiotik BAL setelah masa inkubasi 24 dan 28 jam	20
6	Komposisi nutrisi probiotik dan prebiotik terenkapsulasi	22
7	Pengaruh perlakuan <i>in vitro</i> terhadap total produksi gas, kinetika gas dan konsentrasi metana dalam substrat sampel murni	22
8	Pengaruh perlakuan <i>in vitro</i> terhadap total produksi gas, kinetika gas dan konsentrasi metana dalam substrat ransum basal	23
9	Pengaruh perlakuan terhadap variabel kecernaan nutrien dan fermentasi <i>in vitro</i> dalam substrat sampel murni.	24
10	Pengaruh perlakuan terhadap variabel kecernaan nutrien dan fermentasi <i>in vitro</i> dalam substrat ransum basal.	24
11	Efektifitas perlakuan pada konsentrasi VFA terenkapsulasi dalam substrat sampel murni.	26
12	Efektifitas perlakuan pada konsentrasi VFA terenkapsulasi dalam substrat ransum basal.	27

DAFTAR GAMBAR

1	Hasil peak FTIR sampel fraksi serat tidak terlarut (<i>insoluble</i>)	15
2	Hasil SEM bakteri probiotik & prebiotik inulin. Ket: a. P0; probiotik+prebiotic inulin+xanthan gum, b. P1; P0+tanin 1%, c. P2; P0+tanin 3%, d. P3; P0+tanin 5%, e. P4; inulin komersial.	19
3	Grafik kurva pertumbuhan probiotik terenkapsulasi. Ket: Kontrol (isolat BAL probiotik non enkapsulasi), P0; probiotik+prebiotik inulin+xanthan gum, P1; P0+tanin 1%, P1; P0+tanin 3%, P3; P0+tanin 5%	20

DAFTAR LAMPIRAN

1	Lampiran 1. Hasil inokulasi <i>Streptomyces</i> untuk produksi enzim aktino-292	34
2	Lampiran 2. Hasil produksi enzim aktino-292	34
3	Lampiran 3. Hasil pre-treatment hidrolisis bahan pakan serat tidak terlarut (<i>insoluble</i>)	35
4	Lampiran 4. Hasil pre-treatment hidrolisis bahan pakan serat terlarut (<i>soluble</i>)	35



5	Lampiran 5. Hasil proses enkapsulasi probiotik dan prebiotik	36
6	Lampiran 6. Hasil TPC pertumbuhan bakteri probiotik dan prebiotik terenkapsulasi	36
7	Lampiran 7. Kurva standar pengujian amoniasi (NH_3)	37

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
- a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
- b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.