

ABSTRACT

THE EFFECT OF ALGINATE-CHITOSAN RATIO ON THE CHARACTERISTICS OF HYDROGEL AS AN ENCAPSULATION OF THE PROBIOTIC *LACTOBACILLUS ACIDOPHILUS*

Probiotics are live microorganisms that provide health benefits to the host when consumed in adequate amounts ($\geq 10^6$ CFU/g) upon reaching the digestive tract. However, the viability of probiotics is highly susceptible to exposure to extreme stomach pH (pH 2), which can damage cell membranes and reduce their viability. Hydrogels are an encapsulation method that can protect probiotics. Alginate-chitosan is a polymer combination used in hydrogels through the ionic gelation method. Alginate has the ability to form a stable gel network but has high porosity, while chitosan plays a role in forming cross-links that can reduce bead porosity. The interaction between alginate and chitosan can increase encapsulation efficiency and support gradual release in the intestinal environment. This study aims to evaluate the effect of the alginate-chitosan ratio on the characteristics of hydrogel beads and the ability of the matrix to maintain the viability of *L. acidophilus* under simulated gastrointestinal conditions. The hydrogel was prepared using a complex method with chitosan (Chi) (1% w/v) in 1% acetic acid (v/v) and alginate solution (0.5%-2% w/v) in 100 mL of distilled water. The characterization of the hydrogel observed included bead size using an optical microscope, encapsulation efficiency using the Total Plate Count (TPC) method, degree of swelling under various pH conditions (2 to 8), functional group analysis using Fourier Transform Infrared (FT-IR), and bead surface morphology using Scanning Electron Microscopy (SEM). In addition, probiotic viability tests were conducted under simulated gastrointestinal conditions in the stomach (pH 2) and intestine (pH 7) to evaluate the hydrogel in protecting and releasing probiotics. The results showed that the alginate-chitosan ratio had a significant effect on bead size, encapsulation efficiency, swelling, and hydrogel bead morphology. A 2:1 ratio showed the best formulation, with uniform size (2.92 ± 0.36), the highest encapsulation efficiency (98.58%), and the lowest degree of swelling under acidic conditions (pH 2) and a sharp increase at pH close to neutral. This formulation was also able to maintain the viability of *L. acidophilus* in the range of 7 log CFU/mL for up to 5 hours of exposure in gastrointestinal fluid simulation. These results indicate that the alginate-chitosan combination, particularly the 2:1 ratio, has strong potential as an effective and stable probiotic delivery system under gastrointestinal conditions, thereby supporting its implementation in the development of probiotic products for gut health.

Keywords: Bead, swelling, digestive tract, BAL, chitosan, alginate,

ABSTRAK

PENGARUH RASIO ALGINAT-KITOSAN TERHADAP KARAKTERISTIK HIDROGEL SEBAGAI ENKAPSULAN PROBIOTIK *LACTOBACILLUS ACIDOPHILUS*

Probiotik merupakan mikroorganisme hidup yang memberikan manfaat kesehatan bagi inang ketika dikonsumsi dalam jumlah yang memadai ($\geq 10^6$ CFU/g) saat mencapai saluran pencernaan. Namun, viabilitas probiotik sangat rentan terhadap paparan pH lambung yang ekstrim (pH 2), yang dapat merusak membran sel dan menurunkan viabilitasnya. Hidrogel merupakan metode enkapsulasi yang mampu melindungi probiotik. Alginat-kitosan merupakan kombinasi polimer yang digunakan dalam hidrogel melalui metode gelasi ionik. Alginat memiliki kemampuan membentuk jaringan gel yang stabil, namun memiliki porositas yang tinggi, sementara kitosan berperan dalam membentuk ikatan silang yang dapat mengurangi porositas *bead*. Interaksi alginat-kitosan dapat meningkatkan efisiensi enkapsulasi dan mendukung pelepasan secara bertahap pada lingkungan usus. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi pengaruh rasio alginat-kitosan terhadap karakteristik *bead* hidrogel dan kemampuan matriks dalam mempertahankan viabilitas *L. acidophilus* pada kondisi simulasi gastrointestinal. Hidrogel disiapkan melalui metode kompleks menggunakan kitosan (Chi) (1% b/v) dalam asam asetat 1% (v/v) dan larutan alginat (0,5%-2% b/v) dalam 100 mL aquades. Karakterisasi hidrogel yang diamati meliputi ukuran *bead* dengan mikroskop optik, efisiensi enkapsulasi dengan metode *Total Plate Count* (TPC), derajat *swelling* pada berbagai kondisi pH (2 hingga 8), analisis gugus fungsional dengan *Fourier Transform Infrared* (FT-IR), serta morfologi permukaan *bead* dengan *Scanning Electron Microscopy* (SEM). Selain itu, uji viabilitas probiotik dilakukan pada kondisi simulasi gastrointestinal pada lambung (pH 2) dan usus (pH 7) untuk mengevaluasi hidrogel dalam melindungi dan melepaskan probiotik. Hasil penelitian menunjukkan bahwa rasio alginat-kitosan berpengaruh signifikan terhadap ukuran *bead*, efisiensi enkapsulasi, *swelling*, serta morfologi *bead* hidrogel. Rasio 2:1 menunjukkan formulasi terbaik, dengan ukuran yang seragam (2.92 ± 0.36), efisiensi enkapsulasi tertinggi (98,58%), serta derajat *swelling* paling rendah pada kondisi asam (pH 2) dan meningkat tajam pada pH mendekati netral. Formulasi ini juga mampu mempertahankan viabilitas *L. acidophilus* pada kisaran 7 log CFU/mL hingga 5 jam paparan dalam simulasi cairan gastrointestinal. Hasil ini menunjukkan bahwa kombinasi alginat-kitosan, khususnya rasio 2:1, memiliki potensi kuat sebagai sistem penghantaran probiotik efektif dan stabil terhadap kondisi pada saluran pencernaan, sehingga mendukung implementasinya dalam pengembangan produk probiotik untuk kesehatan usus.

Kata kunci: *Bead*, *swelling*, gastrointestinal, BAL, kitosan, alginat